

Abhängigkeit
der In-Vitro-Empfindlichkeit
von *Neisseria gonorrhoeae*
gegenüber verschiedenen Cephalosporinen
und Penicillin G von den genetisch
determinierten Markern Auxotyp
und Serumresistenz

Dietrich Abeck

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der
Universität München

Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Abhängigkeit der In-Vitro-Empfindlichkeit von Neisseria
gonorrhoeae gegenüber verschiedenen Cephalosporinen und
Penicillin G von den genetisch determinierten Markern
Auxotyp und Serumresistenz

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dietrich Abeck

aus Essen

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24. April 1986

1. EINLEITUNG

- 1.1 Unterschiede in der In-Vitro-Empfindlichkeit von
Neisseria gonorrhoeae-Stämmen gegenüber β -Laktam-
Antibiotika
- 1.2 Klassifikationsmöglichkeiten von Neisseria gonorr-
hoeae-Stämmen
 - 1.2.1 Biochemische Untersuchungsverfahren
 - 1.2.1.1 Untersuchungen mit wachstumsfördernden Stoffen
 - 1.2.1.1.1 Auxotypisierungsverfahren nach Catlin und Carifo
 - 1.2.1.1.2 Modifizierte Auxotypisierungsverfahren
 - 1.2.1.2 Untersuchungen mit wachstumshemmenden Stoffen
 - 1.2.2 Serologische Untersuchungsverfahren
 - 1.2.2.1 Serumresistenzbestimmung
 - 1.2.2.2 Serogruppenbestimmung
 - 1.2.2.3 Gonokokken-Pili-Untersuchungen
- 1.3 Bisherige Versuche zur Korrelation von In-Vitro-
Empfindlichkeit und genetisch determinierten
Markern
- 1.4 Notwendigkeit und Ansatzpunkte für eigene Unter-
suchungen

2. MATERIAL UND METHODEN

- 2.1 Neisseria gonorrhoeae-Stämme
- 2.2 Antibiotika
- 2.3 Antibiotikaempfindlichkeitsbestimmung
- 2.4 Auxotypenbestimmung
- 2.5 Serumresistenzbestimmung
- 2.6 Statistische Methoden

3. ERGEBNISSE

- 3.1 Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen der verschiedenen β -Laktam-Antibiotika
- 3.2 Auxotypenverteilung der untersuchten Stämme und Korrelation mit den ermittelten Werten für die minimale Hemmkonzentration
- 3.3 Serumresistenz der Gonokokken-Isolate und Korrelation mit den ermittelten Auxotypen und den minimalen Hemmkonzentrationen

4. DISKUSSION

- 4.1 Minimale Hemmkonzentration der verschiedenen Antibiotika, Auxotypenverteilung und Serumresistenzverhalten der Münchner Gonokokken-Isolate im Vergleich zu anderen untersuchten Gonokokkenpopulationen
 - 4.1.1 Minimale Hemmkonzentration
 - 4.1.2 Auxotyp
 - 4.1.3 Serumresistenz
- 4.2 Korrelation von Antibiotikaempfindlichkeit, Auxotyp und Serumresistenz im Münchner und auswärtigen Untersuchungsmaterial
 - 4.2.1 Antibiotikaempfindlichkeit und Auxotyp
 - 4.2.2 Antibiotikaempfindlichkeit und Serumresistenz
 - 4.2.3 Antibiotikaempfindlichkeit, Auxotyp und Serumresistenz
- 4.3 Konsequenzen der vorliegenden Untersuchungsergebnisse für die Therapie der Gonorrhoe

5. ZUSAMMENFASSUNG

6. LITERATURVERZEICHNIS

7. CURRICULUM VITAE

1. EINLEITUNG

1.1 Unterschiede in der In-Vitro-Empfindlichkeit von Neisseria gonorrhoeae-Stämmen gegenüber β -Laktam- Antibiotika

Neisseria gonorrhoeae-Stämme variieren sehr stark in ihrer Empfindlichkeit gegenüber unterschiedlichen Antibiotika, wobei die Wirksamkeit eines Antibiotikums häufig mit der des Penicillins verglichen wird, das seit mehr als drei Dekaden das Therapeutikum der Wahl zur Heilung einer Gonokokkeninfektion darstellt (33/48). Jedoch zeichnen sich Neisseria gonorrhoeae-Stämme auch gegenüber einem bestimmten Antibiotikum häufig durch eine große Bandbreite ihrer Empfindlichkeit aus. So lagen die zur Hemmung notwendigen Penicillinkonzentrationen für nicht-penicillinaseproduzierende Stämme in der Studie von Noble und Parekh aus dem Jahre 1983 (67) zwischen 0,015 und 4 $\mu\text{g/ml}$, in der Untersuchung von Korting aus dem Jahre 1984 (53) zwischen 0,008 und ebenfalls 4 $\mu\text{g/ml}$. Auch für andere β -Laktam-Antibiotika trifft dies zu, beispielsweise für Cephalosporine, die den Penicillinen chemisch verwandt sind, weil sie wie diese einen β -Laktamring besitzen. An den Laktamring der 7-Amino-Cephalosporansäure (7-ACS) ist nicht wie bei den Penicillinen ein fünf-, sondern ein sechsgliedriger Heterozyklus ankondensiert: Dihydrothiazin. 7-ACS ist im Gegensatz zur 6-Aminopenicillansäure mehr oder minder säure- und penicillinasefest.

Die synthetisch gewonnenen Cephalosporine werden in verschiedene Generationen unterteilt (88). Die Heterogeni-

tät in der Empfindlichkeit gilt nicht nur für Cephalosporine der ersten Generation (für Cefazolin z. B. zwischen 0,4 - 6,4 µg/ml (28)), sondern auch für die der zweiten (für Cefuroxim z. B. zwischen 0,0001 und 0,5 µg/ml (88)) und dritten Generation (für Ceftizoxim z. B. zwischen 0,00025 und 0,031 µg/ml (53)). Diese Unterschiede, die auch Nicht-β-Laktam-Antibiotika aufweisen (27/58), legen die Frage nahe, ob in dieser Hinsicht unterschiedliche Gonokokkenstämme auch Unterschiede anderer Art aufweisen.

Um diese Frage weiter abklären zu können, bietet es sich an, auf bestehende Methoden zur Klassifikation innerhalb der Spezies zurückzugreifen. Derartige Methoden gründen sich auf die Erfassung durchaus unterschiedlicher bakterieller Eigenschaften.

1.2 Klassifikationsmöglichkeiten von Neisseria gonorrhoeae-Stämmen

1.2.1 Biochemische Untersuchungsverfahren

1.2.1.1 Untersuchungen mit wachstumsfördernden Stoffen

Die wohl größte Bedeutung hat in diesem Zusammenhang bislang die Auxotypisierung gefunden, die sich auf die Notwendigkeit bestimmter Wuchsstoffe für das Wachstum der unterschiedlichen Gonokokkenstämme gründet. Prinzipiell weiß man seit 1946 um derartige Wuchsstoffe.

In jenem Jahr charakterisierten Lankford und Skaggs (55) Glutamin als eine Substanz, die eine *conditio sine qua non* für das Wachstum von Gonokokkenstämmen darstellen kann und zwar in etwa einem Viertel der analysierten Stämme. Im Rahmen der Entwicklung chemisch definierter Medien zur Bakterienzüchtung wurden dann weitere derartige Substanzen erkannt, die insbesondere den Aminosäuren, den Nukleinsäurebasen und den Vitaminen zuzurechnen sind (14). Prinzipiell kann heute zwischen für alle und für einen Teil der Gonokokkenstämmen notwendigen Nährstoffen unterschieden werden. Zur ersten Gruppe ist insbesondere das Cystein zu rechnen.

1.2.1.1.1 Auxotypisierungsverfahren nach Catlin und Carifo

Auf der Basis dieser Erkenntnisse entwickelten dann erstmals Carifo und Catlin ein komplettes System zur Typisierung von Gonokokken, welches aufgrund seiner Berücksichtigung unterschiedlicher Wuchsstoffe als Unterscheidungskriterium "Auxotypisierungssystem" genannt wird. Ausgehend von einem Medium, das allen *Neisseria gonorrhoeae* Stämmen ein Wachstum gestattet, dem sog. NEDA (*Neisseria defined agar*)-Medium, wird unter Weglassen einzelner Inhaltsstoffe dieses Mediums eine Unterteilung der Bakterienstämme vorgenommen. Als prototroph werden solche Stämme bezeichnet, die nur diejenigen Faktoren zum Wachstum benötigen, ohne die ein Gonokokkenwachstum generell nicht mög-

lich ist. Als auxotroph werden demgegenüber Bakterien klassifiziert, die darüber hinaus einen oder mehrere zusätzliche Wachstumsstoffe benötigen. Je nach Art und Zahl dieser Substanzen weist so jeder auxotrophe Stamm ein ganz bestimmtes Ernährungsprofil auf, das zu seiner Benennung herangezogen werden kann. Biochemisch bedeutet ein Wachstumsausfall auf einem Medium, das nicht alle Nährstoffe gleichzeitig enthält, daß das entsprechende Bakterium aufgrund genetischer Veränderungen nicht mehr in der Lage ist, einen notwendigen, enzym-katalysierten Schritt in der Biosynthese eines speziellen Metaboliten zu vollziehen. Der genetische Mechanismus bei THPP-Defekt-Stämmen, d. h. bei Stämmen, die auf Thiaminpyrophosphat-freien Medien kein Wachstum zeigen, ist beispielsweise schon exakt analysiert worden (15).

1.2.1.1.2 Modifizierte Auxotypisierungsverfahren

Verschiedene Modifikationen dieser NEDA-Medien wurden in den folgenden Jahren vorgestellt, wie z. B. 1974 von LaScolea und Young (56), 1975 von Knapp und Holmes (51) oder 1976 von Morello und Mitarbeitern (63). Auch das von Henry und Stewart entwickelte sog. Auxanographic-Typing (43) orientiert sich an den Arbeiten von Carifo und Catlin (13), variiert aber nur sechsmal das Ausgangsmedium (allerdings unter Einbeziehung des von Cat-

lin und Carifo nicht verwendeten Citrullins) und nimmt eine Einteilung in sechs auxanographische Hauptgruppen vor. All diesen modifizierten Schemen ist gemeinsam, daß sie die komplexe und v. a. zeitaufwendige Laborarbeit, wie sie zur Anfertigung des kompletten NEDA-Sets notwendig ist, erheblich vereinfachen und verkürzen, jedoch unter Verlust der Unterscheidungsvielfalt. 1978 konnte Catlin (15) durch zusätzliche Testmedien, die die Neisserien-Stämme hinsichtlich des Defekts gegenüber drei weiteren Aminosäuren (Histidin, Lysin und Leucin) untersuchen, die Gesamtzahl ermittelter Auxotypen von ehemals 20 (13) auf 35 erhöhen.

1.2.1.1. Untersuchungen mit wachstumshemmenden Stoffen

Neben der Untersuchung von wachstumsfördernden Stoffen kann prinzipiell auch die Untersuchung wachstumshemmender Substanzen einen Beitrag zur Klassifizierung von *Neisseria gonorrhoeae*-Stämmen leisten. In diesem Zusammenhang ist ein von fast allen *Candida albicans*-Stämmen produzierter Faktor herangezogen worden (46; 47). Bei dem Faktor handelt es sich um eine wasserlösliche, nicht dialysierbare Substanz mit einem Molekulargewicht von mindestens 9 000, die aus *Candida albicans*-Isolaten gewonnen und lyophilisiert werden kann (46). Eine Unterscheidung von drei Gonokokkengruppen war hierdurch möglich.

1.2.2 Serologische Untersuchungsverfahren

1.2.2.1 Serumresistenzbestimmung

Neben den biochemischen Untersuchungen kommt den serologischen Verfahren die größte diskriminierende Potenz und auch Bedeutung zu. So ist insbesondere die Bestimmung der ebenfalls genetisch determinierten Resistenz von *Neisseria gonorrhoeae*-Stämmen gegenüber normalem humanen Serum (NHS), der sog. Serumresistenz, ein seit 1937 bekanntes (84) und häufig verwendetes Verfahren zur Unterscheidung von Gonokokkenstämmen (57; 80). Der Grad der Resistenz von Gonokokken gegenüber der sowohl komplement- (41) als auch IgM-abhängigen (81) bakteriellen Aktivität wird aufgrund verschiedener Untersuchungen durch multiple Gene bestimmt (12; 85). Die von mit Gonokokken infizierten Personen gebildeten Antikörper sind gegen Bakteriennaußenmembrankomponenten gerichtet, wobei neben dem Protein I (45) und der hitzemodifizierbaren Protein II-Spezies (54) v. a. die Gonokokkenlipopolysaccharide (36; 64) als mögliche Zielantigene in Frage kommen. Schneider und Mitarbeiter (79) folgerten, daß die Serumresistenz bestimmter Gonokokken aus dem Nicht-Vorhandensein von Lipopolysacchariden als antigenwirkende Loci für die lytischen Antikörper in den meisten normalen menschlichen Seren resultiere. Obwohl die Erfassung der Serumresistenz allein nur begrenzte Unterscheidungsmöglichkeiten bei Gonokokkenstämmen zuläßt, führt sie in Kombination mit

dem Auxotypisierungsverfahren, das hiervon unabhängig ist (31), zu einer erheblichen Erweiterung der Unterscheidungsmöglichkeiten,

1.2.2.2 Serogruppenbestimmung

Eine weitere serologische Klassifikationsmöglichkeit besteht in der Untersuchung des sog. MOMP (major outer membrane protein), was mittels der Polyacrylamidgелеlektrophorese durchgeführt werden kann (50). Bislang wurden unter Verwendung spezieller Antikörper mit Hilfe der Co-Agglutinationstechnik drei antigene Hauptklassen unterschieden, die W, J und M genannt wurden (78). Die beiden letzten Klassen eigneten sich angesichts ihrer großen Variabilität nicht für eine definitive Klassifikation bestimmter Stämme. Dies trifft nicht auf die W-Klasse zu, die sich, wie eine genauere "Charakterisierung" zeigte, wiederum in drei Subtypen untergliedern läßt. Die WI-, WII- und WIII-Serogruppenreagenzien ermöglichen eine inzwischen weltweit anerkannte Klassifikation von Gonokokkenstämmen.

1.2.2.3 Gonokokken-Pili-Untersuchungen

Ein drittes Serotypisierungsverfahren arbeitet mit den elektronenmikroskopisch erkennbaren Ausstülpungen der Gonokokkenmembran, den sog. Gonokokken-Pili, von denen seit ihrer Entdeckung im Jahre 1971 (49; 87) und erstmaligen Reindarstellung im darauf folgenden

Jahr (7; 8) vier Varianten (Alpha-, Beta-, Gamma- und Delta-Pili) bekannt sind. Unterschiede bezüglich Virulenz oder Anheftungshäufigkeit an Epithelzellen in Abhängigkeit vom Pilus-Typ konnten bereits aufgezeigt werden (92).

1.3 Bisherige Versuche zur Korrelation von In-Vitro-Empfindlichkeit und genetisch determinierten Markern

Bereits Mitte der 70er Jahre wurde damit begonnen, die Korrelation von Antibiotikaempfindlichkeit, v. a. der des Penicillins, und Auxotyp bei bestimmten Populationen von Gonokokkenstämmen zu untersuchen. Untersuchungen mit demselben Ziel folgten für die Serumresistenz bzw. die Serogruppen.

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die in verschiedenen Publikationen untersuchten Zusammenhänge dieser drei bedeutendsten Klassifikationsmerkmale.

TABELLE 1: Untersuchung von Zusammenhängen zwischen Antibiotikumempfindlichkeit, Auxotyp, Serumresistenz oder Serogruppen bzw. von Kombinationen dieser Marker bei Neisseria gonorrhoeae-Stämmen bei verschiedenen Untersuchergruppen

<u>Antibiotikum</u>	<u>Auxotyp</u>	<u>Serumresistenz</u>	<u>Serogruppe</u>	<u>Auxotyp + Serumresistenz</u>	<u>Auxotyp + Serogruppe</u>
Kein	2; 25;	57	40	57	40
Antibiotikum	40; 57				
Penicillin	3; 16; 17; 18; 20; 21; 27; 31;	31; 80 23	9; 10; 20	31; 80	20; 23
	38; 51; 61; 63; 66; 67; 77;				
	86				
Cephalotin	58				
Cefaclor	27; 67				
Cefotaxim	68				
Cefuroxim	23; 68; 77		9; 23, 66		23
Cefoxitim	27; 67				
Erythromycin	1; 16; 18; 23; 27; 68; 90		9; 23		23

(Fortsetzung von Tabelle 1)

<u>Antibiotikum</u>	<u>Auxotyp</u>	<u>Serumresistenz</u>	<u>Serogruppe</u>	<u>Serumresistenz</u>	<u>Serogruppe</u>
Spectinomycin	16; 18; 27; 58; 69		10		
Streptomycin	16; 18		9		
Tetracyclin	16; 18; 32; 27 58; 61; 67 69; 77; 90				
Doxycyclin	23		9; 10; 23		23
Moxalactam	67				
Vancomycin	32; 61				
Chloramphenicol	16; 18; 32		9		
	58				

Die Untersuchungen über die Korrelation von Auxotyp und Antibiotikumempfindlichkeit ergab z. B., daß Arginin, Hypoxanthin und Uracil benötigende Stämme gewöhnlich sehr empfindlich sind (21; 51; 52; 67), während andererseits Prolin, Arginin, (Ornithin) und Uracil benötigende Stämme sehr unempfindlich sind (66; 67). Die zuerst genannten Stämme gelten überdies als besonders häufige Erreger der disseminierten Gonokokkeninfektion (51; 63). Die dieses Krankheitsbild verursachenden Stämme sind fast ausnahmslos serumresistent (80) und gehören in mehr als 90% der Fälle der Sero-Gruppe WI an (78). Die Serogruppenbestimmung zeigte überdies, daß nicht-penicillinasebildende Stämme der Sero-Gruppe WI empfindlicher sind als den Serogruppen WII und WIII angehörende Stämme, was sowohl für Penicillin als auch für andere Antibiotika gilt (9).

1.4 Notwendigkeit und Ansatzpunkte für eigene Untersuchungen

Die vorliegende Arbeit setzt jeweils den genetisch determinierten Marker Auxotyp bzw. Serumresistenz mit der In-Vitro-Empfindlichkeit gegenüber einer Vielzahl unterschiedlicher β -Laktam-Antibiotika (Penicillin G und insgesamt fünf Cephalosporine aller drei Generationen) in Beziehung und untersucht auch Zusammenhänge zwischen den drei Unterscheidungskriterien.

Während im Falle des Penicillins hierüber mehrere Untersuchungsergebnisse vorliegen, sind die entsprechenden

Daten für Cephalosporine äußerst spärlich bzw. fehlen vollständig (siehe Tabelle 1). Dies mag insofern verwundern, als heute eine Penicillinbehandlung der Gonorrhoe weithin (insbesondere im Fernen Osten und in Teilen Afrikas) unmöglich geworden ist.

Zum einen nimmt die extrachromosomale Resistenz durch die stetige Ausbreitung plasmidtragender und damit β -Laktamase produzierender Stämme immer mehr zu, die 1976 erstmals in England und den USA beschrieben wurden (4; 73). Münchner Untersuchungen zu Folge nahm die Zahl plasmidtragender Stämme zwischen 1982 und 1984 von 2,36% (77) auf 4,1% (52) zu. Diese Zahlen liegen somit nahe der als Wendepunkt angesehenen 5%-Marke, ab der "... das etablierte Therapiekonzept der Gonorrhoe neu überdacht werden ..." (29) muß. Von diesem Grenzwert ebenfalls nicht mehr weit entfernt ist die Schweiz, wo beispielsweise in Zürich zwischen 1980 und 1982 2,9% aller Stämme penicillinaseproduzierend waren (30).

Auch in England kam es zwischen 1977 und 1981 zu einer alarmierenden Zunahme β -Laktamase-produzierender Stämme (60), in London betrug ihr Anteil 1982 4,4% (89). Weit über der 5%-Marke lag ihr Anteil in den Niederlanden, wo 1981 10% aller Neuerkrankungen an Gonorrhoe durch penicillinaseproduzierende Stämme verursacht worden waren (91), wobei es in Amsterdam (mit 18,8%) zu einer endemischen Ausbreitung kam (1). Auch in den USA kam es zwischen 1979 und 1981 zu einem deutlichen Anstieg dieser Stämme (zehnfache Erhöhung (40)) mit teilweise

endemischem Auftreten; bezogen auf das Gesamtkollektiv der Gonokokkenstämme läßt sich die Situation mit der in der Schweiz oder in Deutschland vergleichen. Sehr viel höher liegt der Anteil penicillinasebildender Stämme in Afrika, wo er in manchen Gebieten zwischen 10 und 35% liegt (71), und v. a. in Südost-Asien, wo ihr Anteil bei einer Bangkokener Studie aus dem Jahre 1981 beispielsweise 42% betrug (6).

Ein weiterer Grund für die zunehmend schwieriger werdende Penicillinbehandlung der Gonorrhoe liegt in der chromosomalen Penicillinresistenz begründet. Obwohl in den europäischen Ländern das "Maximum der quantitativen Penicillinresistenz" seinen Höhepunkt in den frühen 70er Jahren erreicht hatte (29), nimmt jedoch in letzter Zeit die Zahl sehr unempfindlicher, nicht-penicillinaseproduzierender Stämme weltweit zu. Von manchen Autoren werden Gonokokkenstämme mit einer Penicillinempfindlichkeit ab 1 µg/ml als resistent betrachtet, da eine Standardtherapie, die in der Gabe von 4,8 Millionen Internationalen Einheiten Procain-Penicillin G zuzüglich 1 g Probenecid besteht, weniger als 90% der mit diesen Stämmen infizierten Personen heilen wird (6; 35). Legt man diesen Wert von 1 µg/ml als Marker für penicillinresistente Stämme zugrunde, so erwiesen sich in deutschen Untersuchungen 3,2% (53), respektive 6,8% (70) der nicht penicillinaseproduzierenden Stämme als resistent. In einer Veröffentlichung aus der Schweiz, in der eine MHK von 0,5 µg/ml

als Grenzwert für penicillinresistente Stämme festgelegt wurde, traf dies für 15% der untersuchten Stämme zu (3). In neuesten nordamerikanischen Veröffentlichungen wiesen 16,1% (67) bzw. 16% (5) der untersuchten Nicht-Penicillinasebildner eine MHK von mindestens 1 µg/ml auf.

Aufgrund der wie oben beschriebenen zunehmenden chromosomalen und extrachromosomalen Resistenz gegenüber Penicillin und der damit verbundenen Therapieschwierigkeiten gewinnen im Rahmen der Gonorrhoe-therapie die Cephalosporine, die ebenfalls der β -Laktamreihe angehören, immer mehr an Bedeutung. Angeführt sei in diesem Zusammenhang die in allerletzter Zeit wiederholt empfohlene Behandlung der Gonorrhoe mit Ceftizoxim (42; 83).

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Neisseria gonorrhoeae-Stämme

Für die im folgenden beschriebenen Untersuchungen wurden insgesamt 117 rezente Gonokokkenisolate herangezogen. Sie waren im Zusammenhang mit der klinischen Prüfung eines neuen Cephalosporins (52) von Patienten mit Gonorrhoe isoliert worden, und zwar ausschließlich aus dem Genitalbereich (Urethra bzw. Cervix). 100 Stämme stammten von männlichen, 17 von weiblichen Patienten. Bis zu und zwischen den einzelnen Untersuchungen wurden die Stämme im Dunklen bei -70°C in foetalem Kälberserum aufbewahrt. Obwohl prinzipiell angestrebt wurde, die Stämme nur möglichst selten zu passagieren, stand einer der Stämme für die zuletzt durchgeführte Serumresistenzbestimmung nicht mehr zur Verfügung. Alle Stämme waren primär auf modifiziertem Thayer-Martin-Medium (Schokoladenagar plus V-C-N-Inhibitor (BBL, Heidelberg)) angezüchtet worden, ihre Identifizierung als *Neisseria gonorrhoeae*-Stämme basierte auf der Morphologie der Kolonien, der Oxidasereaktion, der Gramfärbung und dem charakteristischen Kohlenhydratsspaltungsmuster.

2.2 Antibiotika

Die folgenden Antibiotika wurden in Form genau charakterisierter Reinsubstanzen mit Aktivitätsangabe (sog. working standard) herangezogen:

Penicillin G	(Penicillin G Grünenthal ^R , Grünenthal GmbH, Stolberg)
Cephalothin	(Cephalothin Lilly ^R , Lilly GmbH, Bad Homburg)
Cefazolin	(Gramaxin ^R , Boehringer-Mannheim GmbH)
Cefotiam	(Spizef ^R Takeda Pharma GmbH, Stolberg)
Cefmenoxim	(Tacef ^R , Takeda Pharma GmbH, Stolberg)
Ceftizoxim	(Ceftix ^R , Boehringer-Mannheim GmbH)

2.3 Antibiotikaempfindlichkeitsbestimmung

Für jeden Bakterienstamm wurde die In-Vitro-Empfindlichkeit gegenüber den sechs oben aufgeführten Antibiotika bestimmt und zwar mittels des Agardilutions-tests. Hierzu wurden die auf Mueller-Hinton-Agar mit Zusatz von Hämoglobin (2%) und IsoVitalex^O (1%) (BBL, Heidelberg) rekultivierten Gonokokkenstämme in tryptische Soja-Bouillon (BBL, Heidelberg) inokuliert, die mit IsoVitalex^O (1%) angereichert worden war. Die Suspension wurde mittels Verdünnung auf eine optische Dichte von 0,15 bei 500 nm Wellenlänge unter Verwendung eines Spectronic20-Photometers (Bausch und Lomb, Chicago, Illinois, USA) eingestellt, was annähernd 10⁷ Kolonien-

bildenden Einheiten (KBE) pro ml entspricht, wie Keimzählungen (systematische Verdünnung der Suspension, Kultivierung auf festen Medien und anschließendes Auszählen) gezeigt hatten.

Die Testmedien für die Antibiotikaempfindlichkeitsbestimmung, die bei Versuchsdurchführungen nicht älter als zwei Tage waren, bestanden aus Proteose No. 3 Difco⁰ (Difco, Detroit, Michigan, USA), der 2% Hämoglobin und 1% IsoVitalex⁰ zugesetzt wurden. Zusätzlich enthielten sie Antibiotikallösungen. Zu diesem Zwecke wurden von den verschiedenen Antibiotika zunächst Stammlösungen hergestellt. Penicillin G, Cephalothin, Cefotiam und Ceftizoxim wurden in Aqua bidest. gelöst, Cefazolin und Cefmenoxim in 1 N NaOH, so daß jedes Antibiotikum in einer Primärkonzentration von 128 µg/ml vorlag. Die Stammlösungen wurden anschließend mit Aqua bidest. systematisch verdünnt und die erhaltenen Verdünnungen den obigen Nährmedien derart zugesetzt, daß die jeweiligen Antibiotikakonzentrationen einen Bereich von 0,00025 µg/ml bis 64 µg/ml umfaßten. Auf die einzelnen antibiotikahaltigen Medien wurde dann 1 µl der frisch hergestellten Gonokokkensuspensionen mit dem Denley-Vielpunkt-Inokulator (Mast, Hamburg) aufgebracht, womit die Keimzahl an jedem Impfpunkt 10 000 betrug. Nach 18-stündiger Inkubation bei 37° C in 5%iger, feuchter Kohlendioxidatmosphäre wurden die Platten abgelesen, und die minimale Hemmkonzentration (MHK) jeden Stammes gegenüber jedem der sechs Antibiotika bestimmt. Definitionsgemäß handelt es sich bei der MHK um die geringste Antibiotikumkonzentration,

die gerade kein Bakterienwachstum mehr zuläßt bzw. höchstens das Wachstum von weniger als fünf Gonokokkolonien erlaubt. Die Stämme III, V und VII, die freundlicherweise vom WHO-Referenzzentrum in Kopenhagen zur Verfügung gestellt worden waren, erlaubten eine Qualitätskontrolle.

2.4 Auxotypenbestimmung

Die Autotypisierung der 117 Stämme erfolgte unter Verwendung des 1978 von Catlin (15) beschriebenen Standardsets, das neben dem kompletten NEDA-Medium, das allen Bakterienstämmen ein Wachstum gestattet, noch 13 weitere Medien umfaßt, die sich durch Weglassen (bzw. Hinzufügen) einzelner Inhaltsstoffe zum kompletten NEDA-Medium ergeben.

Tabelle 2 zeigt die unterschiedliche Zusammensetzung der einzelnen Medien im Vergleich zum kompletten NEDA-Medium.

TABELLE 2: Unterschiede der einzelnen Auxotypisierungsmedien im Vergleich zum NEDA-Medium

<u>Bezeichnung des Mediums</u>	<u>Bestandteile, die gegenüber dem kompletten NEDA-Medium</u>	
	<u>weggelassen wurden</u>	<u>hinzugefügt wurden</u>
Komplettes NEDA-Medium	-	-
- Cys	L-Cystein, L-Cystin	-
- Pro	L-Prolin	-
- Arg	L-Arginin	-
- Met	L-Methionin	-
- His	L-Histidin	-
- Lys	L-Lysin	-
- Leu	L-Leucin	-
- Hyx	Hypoxanthin	-
- Ura	Uracil	-
- X	X-Gemisch*	-
- X + THI	X-Gemisch	Thiaminhydrochlorid
- X + THPP	X-Gemisch	Thiaminpyrophosphatchlorid
- Arg + Orn	L-Arginin	L-Ornithin

* = Thiaminpyrophosphatchlorid, Biotin und Lösungen 6, 7 und 10 (siehe Tabelle 3)

Die Anfertigung der Einzellösungen, aus deren Vereinigung sich der flüssige Anteil des NEDA-Mediums zusammensetzt, erfolgte unter exakter Berücksichtigung der Catlinschen Vorlagen. Die Bestandteile der Einzellösungen gibt Tabelle 3 wieder.

TABELLE 3: Einzelbestandteile des NEDA-Mediums

- Lösung 1: L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, Dinatrium-
äthylendiamintetraacetat, Natriumchlorid, Kalium-
sulfat, Magnesiumchlorid, Ammoniumchlorid
- Lösung 2a: L-Argininmonohydrochlorid, Glycin, L-Serin
- Lösung 2b: L-Leucin, L-Isoleucin, L-Valin
- Lösung 3: Natriumlactat, Glycerol, Polyvinylalkohol, Tween 80
- Lösung 4a: Uracil
- Lösung 4b: Hypoxanthin
- Lösung 5: Dikaliumhydrogenphosphat, Kaliumdihydrogenphosphat
L-Tyrosin
L-Cysteiniumchloridmonohydrat
L-Cystin
cis-Oxalessigsäure
5 N Natronlauge zur Einstellung des pH-Wertes auf 7,1
- Lösung 8: L-Tryptophan, L-Threonin, L-Alanin, L-Lysinmonohy-
drochlorid, L-Prolin

Lösung 9: L-Phenylalanin, L-Asparaginmonohydrat

L-Glutamin

L-Histidin

L-Methionin

Spermintetrahydrochlorid

Natriumcarbonat

Dextrose, 20%ige Lösung

Natriumacetat

Lösung 6: Haemin, L-Histidin, 2, 2, 2,-Nitrilotriäthanol

Lösung 7: Nicotinamidadenindinucleotid, Thiaminhydrochlorid,
Calciumpantothenat

Lösung 10: Cholinchlorid, Myoinosit

D-Biotin

Thiaminpyrophosphatchlorid

1 N Natronlauge zur Einstellung des pH-Wertes auf 7,4 0,5
flüssiger Agar, 2%

Calciumchloriddihydrat

Eisen-3-Nitrat

Die notwendigen, mit der Spezifikation pro analysi
versehenen Einzelsubstanzen wurden im Regelfall von
der Firma Merck (Darmstadt) bezogen, lediglich Sper-
mintetrahydrochlorid, Haemin, 2,2,2,-Nitrilotriätha-
nol, Cholinchlorid, Thiaminpyrophosphatchlorid, Di-
natriumäthylendiamintetraacetat, Magnesiumchlorid-

hexahydrat, Natriumlactat, Oxalessigsäure und Eisen-3-Nitrat stammten von der Firma Sigma, Taufkirchen. Bei der Herstellung des flüssigen Anteils des NEDA-Mediums, der alle Lösungen einschließlich der zur Feineinstellung des pH-Wertes benötigten Natronlauge umfaßt (siehe Tabelle 3), wurden die Einzellösungen aseptisch aus ihren Vorratslösungen entnommen und miteinander vermischt. Um eine möglichst geringe Keimkontamination zu erhalten, wurde das so erhaltene Gemisch anschließend nochmals steril filtriert unter Verwendung eines Millipore^O-Filters (Millipore, Eschborn). Der Agar und die zwei zuletzt hinzuzufügenden Lösungen (siehe Tabelle 3) wurden im Anschluß daran unter sterilen Bedingungen beigegeben.

Die Lagerung der einzelnen Medien in verschweißten Plastiktüten bei einer Temperatur von 4-6° C erstreckte sich nie über einen längeren Zeitraum als vier Wochen.

Die zur Auxotypisierung bestimmten Stämme wurden nach ihrem Auftauen zunächst zweimal auf dem kompletten NEDA-Medium subkultiviert, um eventuelle zusätzliche Wuchsstoffe aufgrund früherer Passagen auf anderen Nährböden zu eliminieren. Im Anschluß an die zweite Passage wurden die Gonokokkenstämme in eine von Catlin (15) angegebene gepufferte Salzlösung, deren Bestandteile Tabelle 4 aufzeigt, inokuliert.

TABELLE 4: Bestandteile der "buffered salt solution" als
Inokulationsmedium für Gonokokken

In 350 ml dest H₂O:

<u>Lösung A:</u>	Natriumchlorid	5,850 g
	Kaliumchlorid	0,186 g
	Ammoniumchlorid	0,401 g
	Kaliumdihydrogenphosphat	1,065 g
	Natriumcitrat	0,647 g

In 50 ml dest. H₂O:

<u>Lösung B:</u>	Magnesiumsulfat	0,616 g
	Mangansulfat	0,15 Molar

Die vollständige gepufferte Salzlösung ergibt sich durch Zusammenmischung von

35 ml der Lösung A,
5 ml der Lösung B,
0,1 ml 0,25 M Calciumpanthotenats,
0,8 ml Glycerol,
59 ml dest. H₂O.

Der endgültige pH-Wert der erhaltenen Lösung wird mittels 1 N Natronlauge auf einen Wert von 7,4 eingestellt.

Die Suspension jedes Stammes wurde photometrisch auf eine optische Dichte von 0,015 bei einer Wellenlänge von 500 nm eingestellt, und 1 μ l jeder Bakteriensuspension mit dem Denley-Vielpunkt-Inokulator auf die 14 verschiedenen Medien aufgebracht. Nach 18-stündiger Bebrütung (37° C; 5% feuchte CO₂-Atmosphäre) wurde das Keimwachstum unter den unterschiedlichen Bedingungen analysiert, und der jeweilige Auxotyp anhand der von Catlin (15) angegebenen Wachstumsprofile bestimmt.

Die Ernährungsmuster der 35 von Catlin beschriebenen Auxotypen zeigt Tabelle 5.

TABELLE 5: Wachstumsdefekte der 35 von Catlin bestimmten Auxotypen

Auxo- typ	Phenotyp	-PRO	-ARG	-MET	-HIS	-LYS	-LEU	-HYP	-URA	-V	-V +THI	-V +THPP	-ARG +ORN
1	Zero	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Pro	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Arg	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Met	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Thi	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
6	Thp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
7	Pro, Arg	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	Pro, Met	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Pro, Hys	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
10	Pro, Hys, Thi	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Pro, Arg, Hys, Ura	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	Arg, Met	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Arg, Hys	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Arg, Hys, Ura	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Arg, Met, Hys, Ura	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Arg, Hys, Ura	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Arg, Met, Hys, Ura	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Arg, Hys, Ura, Thp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Arg, Hys, Ura, Thp	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	Arg, Hys, Ura, Thi	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	Pro, Thp	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	Pro, Met, Thp	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	Pro, Thi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	Arg, Thi	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	Lys	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	His	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Arg, His	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	Arg, His, Hys, Ura	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	Arg, His, Hys, Ura	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	Arg, Leu, Hys, Ura	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	Arg, Leu, Hys, Ura	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	Arg, Leu, Hys, Ura, Thp	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	Pro, Arg, Met, Hys, Ura	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34	Pro, Arg, Met, Leu, Hys, Ura	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35	Pro, Arg, Hys, Ura, Thp	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = Wachstum - = kein Wachstum

2.5 Serumresistenzbestimmung

Die Empfindlichkeit gegenüber normalem humanen Serum (NHS) wurde ermittelt unter Verwendung des von Corbeil und Mitarbeitern (22) entwickelten Plaqueassays, einer Modifikation der von Fierer und Mitarbeitern (34) entwickelten Methode. Das Blut zur Serumgewinnung stammte von zehn freiwilligen Spendern (sechs von ihnen männlich, vier von ihnen weiblich), die in ihrer Anamnese keine Erkrankung an Gonorrhoe aufwiesen. Das Spenderblut wurde zunächst 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahrt und anschließend bei einer Temperatur von 4° C zentrifugiert. Das Serum wurde aseptisch entnommen, gepoolt, und anschließend in Gefäßen von jeweils 1 ml Fassungsvermögen bei -70° C bis zu seiner Verwendung aufbewahrt. Von jedem zu untersuchenden Bakterienstamm wurde nach Rekultivierung auf Schokoladenagar eine Suspension in gepufferter Salzlösung (siehe Tabelle 4) mit einer photometrisch bestimmten und durch Auszählung der Kolonien auf Festplatten verifizierten Gonokokkendichte von 10^8 Organismen pro ml angefertigt. Von der Ausgangssuspension wurden vier jeweils um den Faktor 10 erniedrigte Verdünnungsstufen hergestellt. 0,1 ml-Portionen der einzelnen Verdünnungsstufen wurden auf spezielle, mindestens sechs Tage alte feste Nährböden in Petrischalen (jede Platte enthielt 0,5 mg mittels Membranfiltration sterilisiertes Diäthylaminodextran (Deae-Dextran⁰, Pharmacia, Uppsala-

la, Schweden) pro ml GC-Agar (Difco, Detroit, Michigan, USA) plus Hämoglobin (2%) und IsoVitalex^O aufgebracht und mit einem sterilen Glasspatel gleichmäßig auf der Platte verteilt. Dann wurde auf jede Platte mit jeweils unterschiedlicher Gonokokkenzahl (10^7 , 10^6 , 10^5 oder 10^4) 0,05 ml Serum aufgetropft, das 15 Minuten bei Raumtemperatur in den Agar einziehen konnte. Nach anschließender 18-stündiger Inkubation in feuchter 5%-iger CO₂-Atmosphäre bei 37° C wurden die Platten auf Plaques, d. h. Hemmung des Bakterienwachstums im Bereich des aufgetropften Serums, untersucht, wobei Serumempfindlichkeit gegeben war, wenn wenigstens ein Plaque auftrat.

2.6 Statistische Methoden:

Im Rahmen der statistischen Berechnungen kamen der t-Test nach Student sowie der χ^2 -Test (19) zur Anwendung

3. ERGEBNISSE

3.1 Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen der verschiedenen β -Laktam-Antibiotika

Die Abbildungen 1 bis 6 zeigen die mittels der Antibiotikaempfindlichkeitsbestimmung erhaltene Verteilung der MHK-Werte für Penicillin und die einzelnen Cephalosporine.

Abbildung 1: Verteilung der Penicillin G MHK-Werte

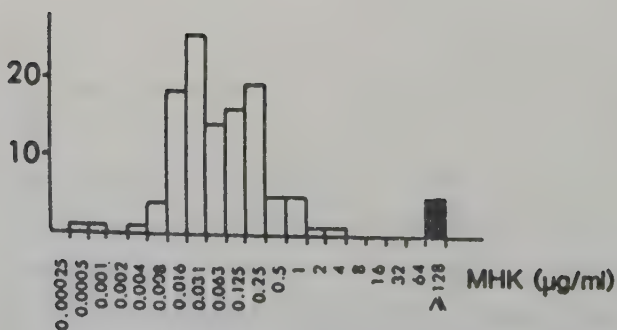


Abbildung 2: Verteilung der Cephalothin MHK-Werte

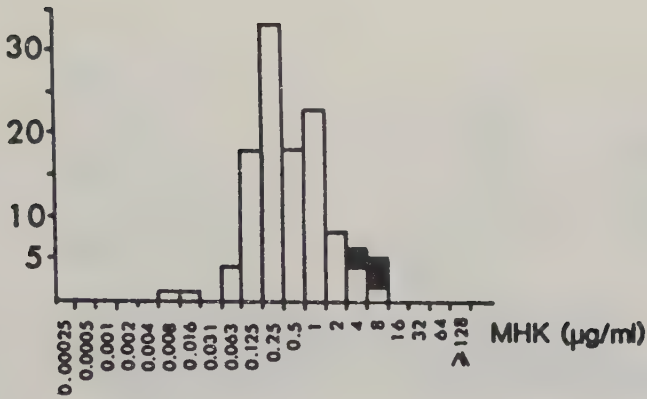


Abbildung 3: Verteilung der Cefazolin MHK-Werte

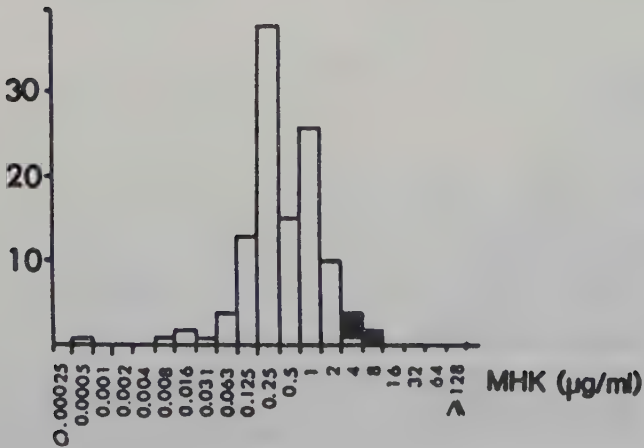


Abbildung 4: Verteilung der Cefotiam MHK-Werte

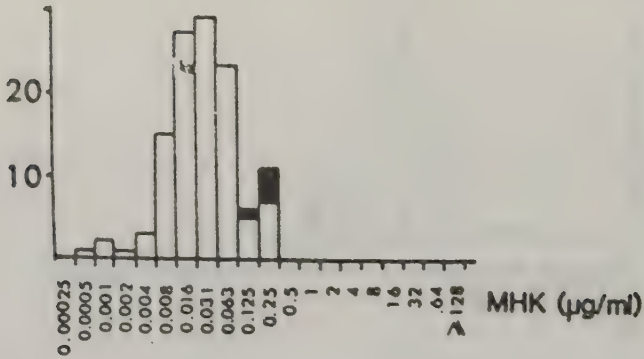


Abbildung 5: Verteilung der Cefmenoxim MHK-Werte

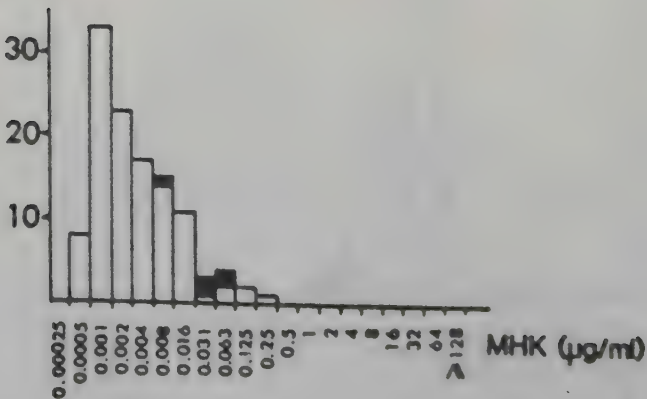
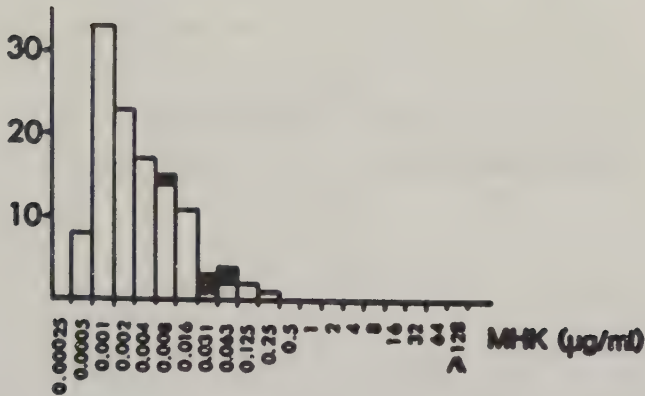


Abbildung 6: Verteilung der Cefprozim MHK-Werte



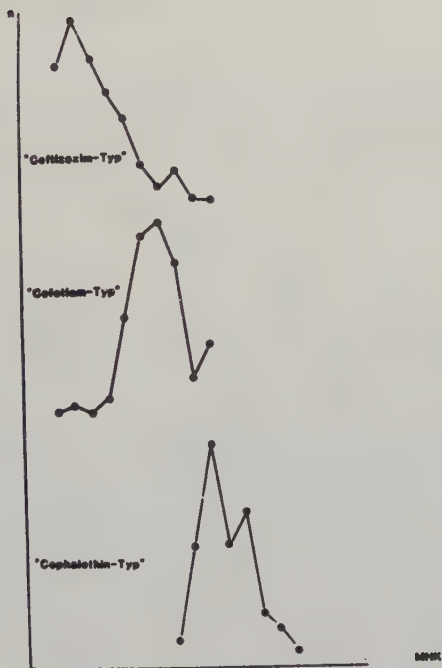
Die Verteilung weist für Penicillin G ein bimodales Verteilungsmuster auf mit Maxima bei 0,031 bzw. 0,25 µg/ml, von denen das zweite, das von weniger empfindlichen Stämmen gebildet wird, beinahe die Höhe des ersten erreicht.

Auch die beiden älteren Cephalosporine Cephalothin und Cefazolin besitzen ein bimodales Verteilungsmuster (Maxima jeweils bei 0,25 bzw. 1 µg/ml), wobei jedoch das erste Maximum im Bereich empfindlicherer Stämme eindeutig dominiert. Im Unterschied hierzu zeigt Cefotiam als Vertreter der zweiten Generation der Cephalosporine

eine quasi monomodale Verteilung (Maximum bei 0,031 µg/ml), wobei jedoch noch eine zweite, wenn auch erheblich kleinere Zacke im Bereich der höchsten Resistenzstufe (0,025 µg/ml) auffällt. Diese zweite Spitze im Bereich niedriger Empfindlichkeit nimmt noch weiter ab und verliert damit weiter an Bedeutung bei den neuesten Cephalosporinen Cefmenoxim und Ceftizoxim.

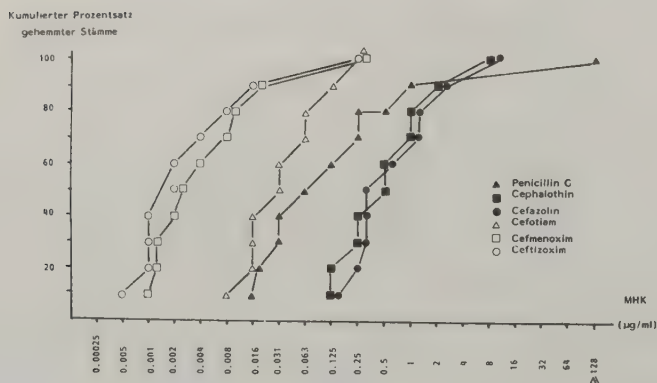
Abbildung 7 stellt noch einmal exemplarisch die aufgrund der MHK-Verteilung gefundenen drei typischen Verteilungsmuster der einzelnen Cephalosporingenerationen dar.

Abbildung 7: Charakteristisches Verteilungsmuster der
MHK-Werte der einzelnen Cephalosporingene-
ration



Bimodale Verteilung beim "Cefazolin"-Typ, monomodales Verteilungsmuster beim "Cefotiam"- und "Ceftizoxim"-Typ, bei ersterem mit noch ausgebildeter zweiter Zacke, bei letzterem mit kaum noch wahrnehmbarer zweiter Zacke.

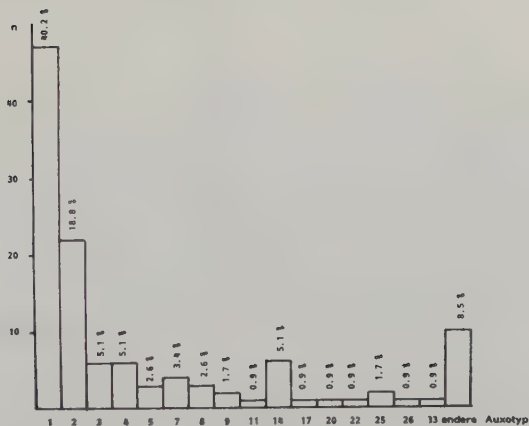
Abbildung 8 weist die kumulativen Prozentwerte von inhibierten *Neisseria gonorrhoeae*-Stämmen bei verschiedenen Konzentrationen der verwendeten sechs Antibiotika auf.



Die sich aufgrund der Werte ergebende $MHK_{90\%}$, die ein entscheidendes Maß für die antibakterielle Aktivität eines Antibiotikums darstellt und derjenigen Antibiotikakonzentration entspricht, bei der mindestens 90% aller Stämme kein Wachstum mehr zeigen, beträgt für Cephalothin 4 µg/ml, 2 für Cefazolin, 0,5 für Penicillin, 0,25 für Cefotiam und liegt sowohl für Cefmenoxim als auch für Ceftizoxim bei 0,016 µg/ml.

3.2 Auxotypenverteilung der untersuchten Stämme und Korre- lation mit den ermittelten Werten für die minimale Hemmkonzentration

Abbildung 9 gibt die Verteilung der bei den 117 unter-
suchten Stämmen bestimmten Auxotypen wieder.



Obwohl über die Hälfte der Stämme Auxotyp 1 oder 2 an-
gehören (69 von 117), ergibt sich dennoch ein weites
Spektrum an verschiedenen Auxotypen. Noch 14 weitere

von Catlin (15) beschriebene konnten, häufig mehrmals, ermittelt werden. Die Auxotypen 3, 4 und 14 wurden beispielsweise von jeweils sechs Stämmen repräsentiert. Von den fünf getesteten penicillinasebildenden Stämmen gehörten drei dem Auxotyp 1 und zwei dem Auxotyp 2 an. Zehn der untersuchten 117 Bakterienstämme (8,5%) weisen hingegen Ernährungsprofile auf, die keinem der von Catlin (15) beschriebenen 35 Auxotypen zuzuordnen sind.

Abbildung 10 bis 15 schlüsseln die gefundenen MHK-Werte sowohl in bezug auf alle Auxotypen als auch spezielle Auxotypen, nämlich Auxotyp 1, 2, 3, 4 und 14 auf.

Abbildung 10: Korrelation zwischen Auxotyp und Empfindlichkeit gegenüber Penicillin G

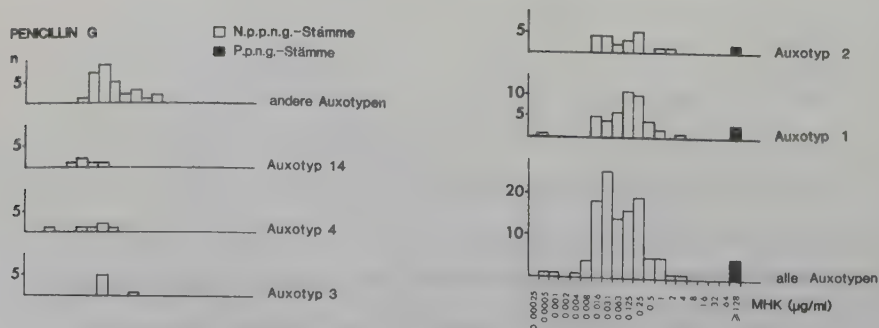


Abbildung 11: Korrelation zwischen Auxotyp und Empfindlichkeit gegenüber Cephalothin

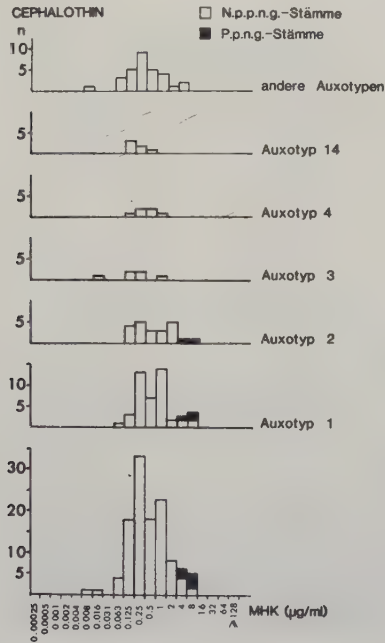


Abbildung 12: Korrelation zwischen Auxotyp und Empfindlichkeit gegenüber Cefazolin

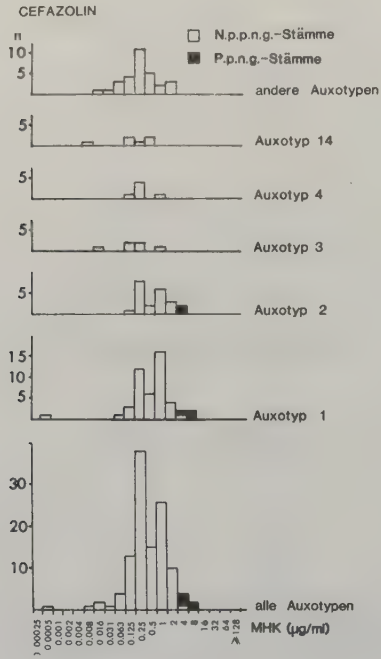


Abbildung 13: Korrelation zwischen Auxotyp und Empfindlichkeit gegenüber Cefotiam

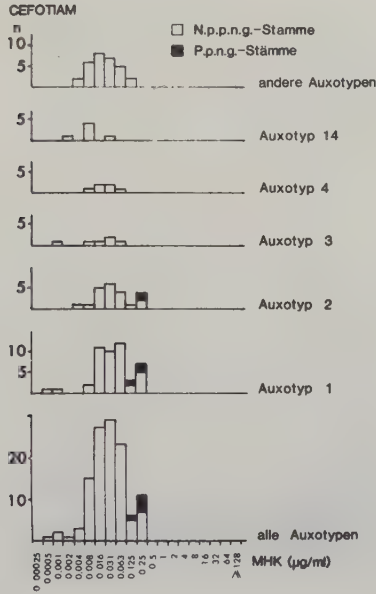


Abbildung 14: Korrelation zwischen Auxotyp und Empfindlichkeit gegenüber Cefmenoxim

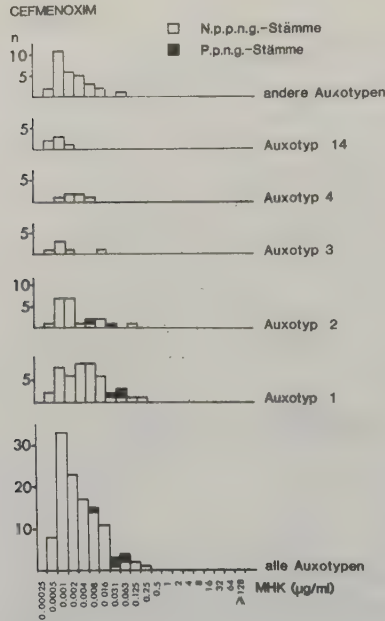
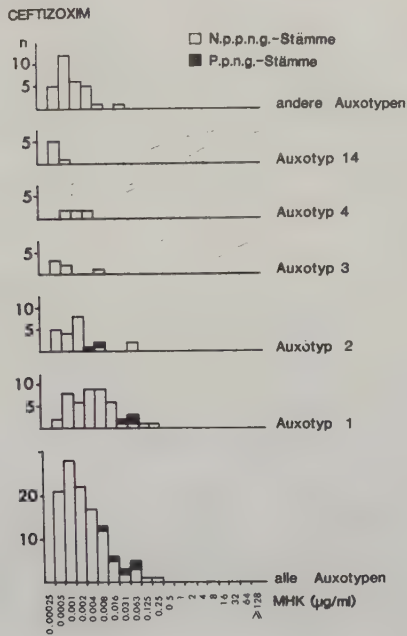


Abbildung 15: Korrelation zwischen Auxotyp und Empfindlichkeit gegenüber Cefprozid



Die bimodale Verteilung der MHK-Werte von Penicillin G (siehe Abb. 1) zeigt eine eindeutige Korrelation mit bestimmten Auxotypen (siehe Abb. 10). Die kleinere Spitze im Bereich höherer Antibiotikakonzentrationen (0,25 µg/ml) koinzidiert mit einer deutlichen Kumulation von prototrophen Typ-1-Stämmen der gleichen Empfindlichkeit, während die Zacke im Bereich niedriger Antibiotikakonzentrationen (0,031 µg/ml) vornehmlich aus empfindlichen Stämmen anderer Auxotypenzugehörigkeit resultiert.

Wie für Penicillin G ist auch für Cephalothin und Cefazolin der bimodale Verteilungstyp charakteristisch (siehe Abb. 2 und 3). Ausgehend vom Penicillin zeigen jedoch die prototrophen Stämme diesen Antibiotika gegenüber (siehe Abb. 11 und 12) ebenfalls ein bimodales Verteilungsmuster, d. h. Typ-1-Stämme haben zwar wie beim Penicillin einen großen Anteil an der Zackenbildung im Bereich höherer Antibiotikakonzentrationen (bei beiden Antibiotika bei 1 µg/ml), jedoch tragen sie auch - im Gegensatz zur Situation bei Penicillin - nicht unerheblich zur Bildung der zweiten Spitze im Bereich niedriger Antibiotikakonzentrationen (0,25 µg/ml sowohl bei Cephalothin als auch bei Cefazolin) bei, wobei jedoch dieser zweite Gipfel wie bei Penicillin mehrheitlich sich aus auxotrophen Stämmen zusammensetzt.

Cefotiam, Cefmenoxim und Ceftizoxim weisen abweichend von den drei erstgenannten Antibiotika eine monomodale

Verteilung ihrer MHK-Werte auf (siehe Abb 4 bis 6). Unterschiede zwischen Cefotiam und den beiden Cephalosporinen der dritten Generation ergeben sich insofern, als die Verteilungskurve bei Cefotiam einer Normalverteilung entspricht, d. h. mit der Spitze im Bereich der Mitte (bei 0,031 µg/ml) einer annähernd glockenförmigen Verteilungskurve (siehe Abb. 13), während bei Ceftizoxim und Cefmenoxim die Spitze der Kurve (bei 0,001 µg/ml für beide Antibiotika) sehr stark in den Bereich sehr niedriger MHK-Werte gerückt ist (siehe Abb. 14 und 15). Der progressive Verlust relativ resistenter Stämme geht Hand in Hand mit einer Abnahme relativ resistenter Typ-1-Stämme. Diese Tendenz deutete sich bereits im Falle des Cefotiams an und ist deutlich bei Cefmenoxim und Ceftizoxim.

Tabelle 6 stellt die geometrischen Mittelwerte der MHK-Werte von Penicillin G und den Cephalosporinen vergleichend und aufgeschlüsselt für verschiedene Auxotypen einander gegenüber.

TABELLE 6: Geometrische Mittel von penicillin G- und Cephalosporin-MHK-Werten, aufgeschlüsselt für einzelne Auxotypen (die Markierungen zeigen den Grad der Signifikanz gemäß dem t-Test an:

(*: $p \leq 0,001$; **: $p \leq 0,005$; ***: $p \leq 0,01$; ****: $p \leq 0,02$)

	<u>Auxotyp</u>			
	1	1 + 2	2	14 : übrige
Penicillin G	0,1742 : 0,0610*	0,1734 : 0,0378*	0,1722 : 0,0378	0,0051 : 0,1086
Cephalothin	0,6847 : 0,3508****	0,6637 : 0,2692*	0,6237 : 0,2692***	0,1986 : 0,4742
Cefazolin	0,5546 : 0,3076*	0,5821 : 0,2173*	0,6412 : 0,2173****	0,1410 : 0,4102
Cefotiam	0,0723 : 0,0165***	0,0391 : 0,0109*	0,0410 : 0,0109***	0,0080 : 0,0245
Cefmenoxim	0,0055 : 0,0015*	0,0043 : 0,0013*	0,0026 : 0,0013	0,0009 : 0,0060
Ceftizoxim	0,0051 : 0,0013*	0,0041 : 0,0010*	0,0023 : 0,0010	0,0006 : 0,0029

Antibiotikum

Die bei Penicillin gefundene Korrelation, daß vorwiegend prototrophe Stämme das Maximum im Bereich höherer Antibiotikakonzentrationen bilden, hingegen auxotrophe Stämme die Spitze im Bereich niedriger Antibiotikakonzentrationen (siehe Abb. 1 und 10), läßt sich durch die ermittelten Werte statistisch belegen: die prototrophen Stämme sind signifikant resistenter als die übrigen (Defekt-) Stämme, eine Feststellung, die im übrigen entsprechend auch für alle getesteten Cephalosporine Gültigkeit besitzt. Neben den prototrophen Stämmen zeigen auch die Prolin-Defekt-Stämme (Auxotyp 2) bei Penicillin und allen Cephalosporinen eine gegenüber den anderen Defekt-Stämmen erhöhte Resistenz. Desgleichen fallen die Arginin, Hypoxanthin und Uracil benötigenden Stämme (Auxotyp 14) durch eine, wenn auch aufgrund der geringen Fallzahl nicht signifikante, jedoch gegenüber den anderen Stämmen deutlich erhöhte Antibiotikaempfindlichkeit auf.

3.3 Serumresistenz der Gonokokken-Isolate und Korrelation mit den ermittelten Auxotypen und den minimalen Hemmkonzentrationen

Die Untersuchung der Stämme bezüglich ihrer Serumresistenz ergibt, daß 24 (21%) der insgesamt untersuchten 116 Stämme serumempfindlich sind, 92 (79%) eine Serumresistenz aufweisen. 23 der 24 serumempfindlichen Stämme stammen von männlichen Patienten, ein Stamm von einer

weiblichen Erkrankten; die entsprechenden Daten für serumresistente Stämme lauten 76 (83%) bzw. 16 (17%), wobei sich statistisch keine Signifikanz nachweisen läßt.

Tabelle 7 zeigt die Verteilung serumresistenter bzw. serumempfindlicher Stämme bezogen auf die einzelnen Auxotypen.

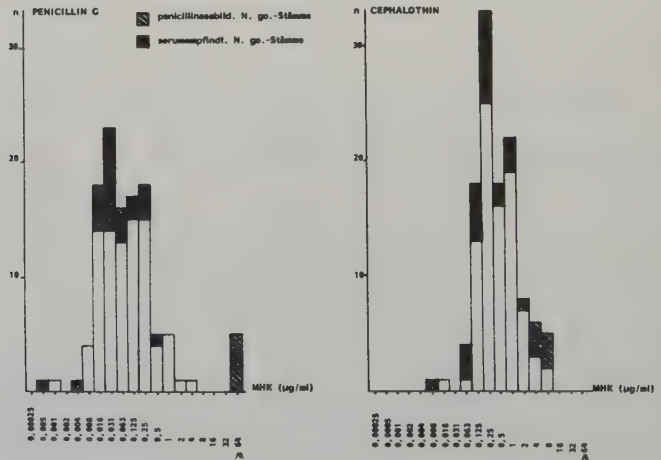
Ein statistisch signifikanter Befund konnte nicht erhoben werden, die Serumresistenz ist als unabhängig vom Auxotyp anzusehen.

TABELLE 7: Auxotypenzugehörigkeit serumempfindlicher bzw. serum-resistenter *Neisseria gonorrhoeae*-Stämme

Auxotyp	1	2	3	4	5	7	8	14	andere
serumempfindliche Stämme	7	3	2	0	0	1	2	3	6
serumresistente Stämme	39	19	4	6	3	3	1	3	14

Abbildung 16 gibt eine Übersicht über die Verteilung der durch Serum gehemmten bzw. nicht beeinflussten Stämme bei allen getesteten Antibiotika in Abhängigkeit vom jeweiligen MHK-Wert.

Abbildung 16: Verteilung der MHK-Werte serumempfindlicher bzw. serumresistenter Stämme bei Penicillin G und den Cephalosporinen



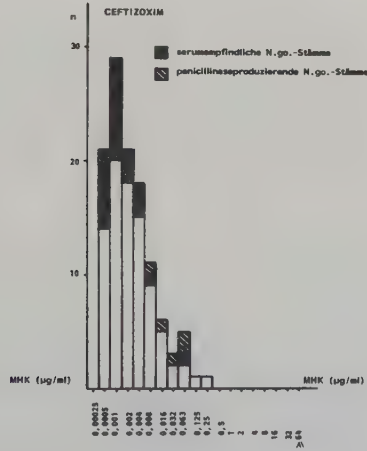
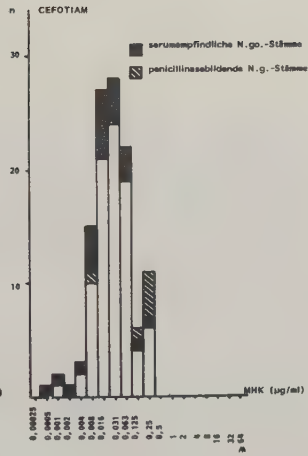
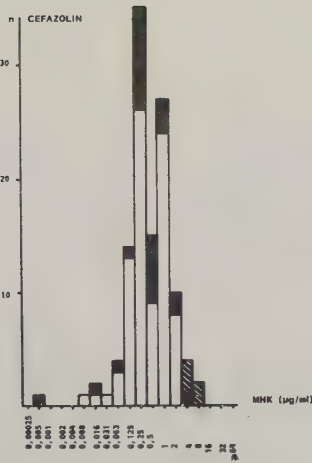


Tabelle 8 faßt die sich aus obigen Abbildungen für die beiden Gruppen von Stämmen ergebenden geometrischen Mittelwerte der MHK-Werte zusammen.

Diese liegen für die serumresistenten Stämme bei allen Antibiotika höher als bei den serumempfindlichen Stämmen, im Falle des Penicillin G und des Cefotiams sogar signifikant höher. Gleichzeitig nimmt die Differenz zwischen den geometrischen Mitteln der MHK-Werte, sowohl bei serumempfindlichen als auch bei serumresistenten Gonokokken-Stämmen von Generation zu Generation der einzelnen Cephalosporine ab. Die bei Penicillin gefundenen Werte lassen sich am ehesten mit den für Cephalothin und Cefazolin erhaltenen Daten vergleichen.

TABELLE 8: Geometrische Mittel der MHK-Werte der verschiedenen β -Laktam-Antibiotika
bei serumempfindlichen und serumresistenten *Neisseria gonorrhoeae*-Stämmen
(* $\hat{=}$ p $\leq$ 0,05)

	Cephalothin	Cefazolin	Cefotiam	Penicillin G	Cefmenoxim	Ceftizoxim
serumempfindliche Stämme	0,2434	0,3064	0,0137	0,0389	0,0021	0,0014
serumresistente Stämme	0,5079	0,4620	0,0341*	0,0800*	0,0036	0,0029

4. DISKUSSION

4.1 Minimale Hemmkonzentration der verschiedenen Antibiotika, Auxotypenverteilung und Serumresistenzverhalten der Münchner Gonokokken-Isolate im Vergleich zu anderen untersuchten Gonokokkenpopulationen

4.1.1 Minimale Hemmkonzentration

Der sich in der vorliegenden Untersuchung aus der Antibiotikaempfindlichkeitsbestimmung ergebene geometrische Mittelwert von 0,106 µg/ml für Penicillin (siehe Abb. 1) lag in einer anderen Münchner Untersuchung aus dem Jahr zuvor (53) mit 0,068 µg/ml eindeutig niedriger. In der Schweiz (3) lagen die ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen bei nicht-penicillinaseproduzierenden Stämmen zwischen 0,001 und 2 µg/ml, in London (44) zwischen 0,007 und 4 µg/ml und sind somit mit den hier ermittelten Werten zwischen 0,0005 und 4 µg/ml vergleichbar. Dillon und Pauze (26) ermittelten in Kanada bei zwischen 1973 und 1983 über jeweils unterschiedliche Zeiträume isolierten *Neisseria gonorrhoeae*-Stämmen MHK_{90%}-Werte zwischen 0,3 und 2 µg/ml, wobei der hier ermittelte Wert von 0,5 µg/ml innerhalb dieses Berei-

ches liegt. In Singapur erreichten nicht-penicillinase-produzierende Stämme minimale Hemmkonzentrationen bis zu 8 µg/ml (82), in Hongkong lag der geometrische Mittelwert in einer Untersuchung aus dem Jahre 1981 bei 0,4 µg/ml (65).

Im Gegensatz zu der in der Untersuchung von Korting (53) für Cephalothin bestimmten $MHK_{90\%}$ von 2,0 µg/ml ist zwar der hier ermittelte Wert von 4,0 µg/ml doppelt so hoch (siehe Abbildung 2 und 8), jedoch liegt der geometrische Mittelwert der Antibiotikumbestimmung mit 0,48 µg/ml niedriger als der von Korting angegebene Wert von 0,057 µg/ml. In Frankreich war der geometrische Mittelwert in einer Untersuchung aus dem Jahre 1981 (88) mit 0,26 µg/ml eindeutig niedriger, auch erreichten dort bei drei Untersuchungen zwischen 1979 und 1981 (58; 74; 88) keiner der untersuchten Stämme eine MHK von 8,0 µg/ml, wie es bei zwei der hier getesteten Stämme der Fall war. In einer amerikanischen Untersuchung aus dem Jahre 1979 (37) lagen die bestimmten Antibiotikakonzentrationen im Bereich zwischen 0,03 und 8 µg/ml, die $MHK_{90\%}$ betrug 1,4 µg/ml.

Der bei Korting (53) für Cefazolin in seinem Untersuchungsgut bestimmte $MHK_{90\%}$ Wert von 2,0 µg/ml war mit dem hier ermittelten Wert identisch (siehe Abb. 8). Die nicht-penicillinasebildenden Stämme umfaßten in der vorliegenden Untersuchung einen Bereich von 0,0005 bis 4 µg/ml (siehe Abbildung 3), während französische Unter-

suchungen aus dem Jahre 1981 sowohl im Bereich hoher Empfindlichkeit mit 0,016 µg/ml (74; 75) als auch niedriger Empfindlichkeit mit 1 (75) bzw. 2 (74) µg/ml keine so starken Unterschiede in den ihnen vorliegenden Gonokokkenpopulationen aufzeigen konnten. In den USA lag der $\text{MHK}_{90\%}$ -Wert in einer Untersuchung aus dem Jahre 1979 (37) mit 1,8 µg/ml nur geringgradig niedriger als die hier ermittelten 2,0 µg/ml.

Die für Cefotiam erhobenen Werte von 0,034 µg/ml als geometrischer Mittelwert (siehe Abb. 4) und 0,25 µg/ml als $\text{MHK}_{90\%}$ -Wert (siehe Abb. 8) sind fast identisch mit den in allerjüngster Zeit ebenfalls bei Münchner Gonokokkenstämmen ermittelten Werten von 0,03 µg/ml als geometrisches Mittel bzw. 0,25 µg/ml als $\text{MHK}_{90\%}$ (52a). In Frankreich lag der $\text{MHK}_{90\%}$ -Wert in einer dort durchgeführten Untersuchung um eine Verdünnungsstufe niedriger (74).

Korting (53) ermittelte bei Münchner Gonokokkenisolaten für Cefmenoxim einen Empfindlichkeitsbereich zwischen 0,00025 und 0,125 µg/ml, der in dieser Untersuchung zwischen 0,0005 und 0,25 µg/ml lag (siehe Abb. 5). Der aufgrund dieser MHK-Verteilung ermittelte geometrische Mittelwert lag mit 0,0029 µg/ml auch etwas höher als der von Korting (53) ermittelte Wert von 0,0025 µg/ml, der $\text{MHK}_{90\%}$ -Wert war in beiden Untersuchungen mit 0,016 µg/ml (siehe Abb. 8) gleich.

Im Unterschied zur Untersuchung von Korting (53), bei der kein Stamm in seiner Antibiotikumempfindlichkeit gegenüber Ceftizoxim über 0,031 µg/ml lag, war in dieser Gonokokkenpopulation der Grenzwert bei 0,25 µg/ml (siehe Abb. 6). Auch der von Korting (53) ermittelte geometrische Mittelwert von 0,0016 µg/ml und der $MHK_{90\%}$ -Wert von 0,004 µg/ml lagen niedriger als die hier erhobenen Werte (0,0031 µg/ml resp. 0,016 µg/ml (siehe Abb. 8)). In einer englischen Untersuchung aus dem Jahre 1984 (83) wurden alle getesteten Stämme durch eine Konzentration von 0,007 µg/ml gehemmt. In den USA lag der Empfindlichkeitsbereich untersuchter Stämme zwischen 0,004 und 0,03 µg/ml (76), in Singapur (82) zwischen 0,0005 und 0,008 µg/ml.

4.1.2 Auxotyp

Die Auxotypenverteilung (siehe Abb. 9) zeigte eine Dominanz der Typen 1 (40,8% aller Stämme) und 2 (18,2% aller Stämme). Sie überwogen in ihrer Häufigkeit eindeutig gegenüber den anderen auxotrophen Stämmen, die einen Anteil von maximal 5,1% erreichten (Auxotyp 3, 4 und 14). Daß dieses in der vorliegenden Untersuchung ermittelte Auxotypenverteilungsmuster in Einklang mit anderen Untersuchungen steht, zeigt Tabelle 9, die den Anteil von Stämmen des Auxotyps 1, 2, 3, 7 und 14 in anderen untersuchten Gonokokkenpopulationen aufzeigt.

TABELLE 9: Vorkommenshäufigkeit bestimmter Auxotypen bei Gonokokkenpopulationen anderer Untersucherguppen

<u>Untersucher</u>	<u>Jahr</u>	<u>Unter- suchte Stämme</u>	<u>Angaben in Prozent</u>					
			<u>Aux 1</u>	<u>Aux 2</u>	<u>Aux 3</u>	<u>Aux 7</u>	<u>Aux 14</u>	<u>übrige</u>
Carifo und Catlin (13)	1973	251	25,5	33,8	17,5	1,2	9,6	12,4
Catlin und Pace (16)	1977	166	27,7	31,3	21,7	1,8	7,2	10,3
Draper et al. (27)	1981	41	46,3	7,3	9,8	2,4	9,8	24,4
Exner et al. (32)	1982	95	24,2	30,5	20,0	3,2	12,6	9,5
Danielsson et al. (23)	1983	245	29,4	18,8	3,3	0,4	19,2	20,8
Ruckdeschel et al. (77)	1983	169	58,8	25,5	4,8	0	1,8	11,2
Noble et al. (68)	1984	150	50,0	16,7	Keine Angaben		12,7	20,7

Mit Ausnahme der Untersuchung von Draper und Mitarbeitern (27) lag der Anteil der Auxotypen 1 und 2 bei den aufgeführten Arbeiten jeweils über 50%. Der hier ermittelte Wert von 59% die ersten beiden Auxotypen repräsentierender Stämme ist fast identisch mit den 1973 von Catlin und Carifo (13) erhaltenen 59,3% dieser beiden Auxotypen. Noble und Parekh (68) bestimmten 1984 66,7%, Ruckdeschel und Mitarbeiter (77) sogar 84,3% Auxotyp 1- und 2-Stämme in ihrem Untersuchungsgut.

Bei den fünf β -Laktamase-bildenden Stämmen handelte es sich in drei Fällen um prototrophe Bakterienstämme, in den übrigen zwei Fällen um den Auxotyp 2. Diese auffällige Zuordnung penicillinaseproduzierender Stämme zu den Auxotypen 1 und 2 deckt sich auch mit den Beobachtungen anderer Untersucher, wie Tabelle 10 verdeutlicht.

TABELLE 10: Auxotypenzugehörigkeit von β -Laktamase-Bildnern bei verschiedenen Untersucherggruppen

<u>Untersucher</u>	<u>Zahl der</u>		<u>Auxotypen</u>			<u>%-Anteil Aux 1- und Aux 2-Stämme</u>
	<u>β-Lakt.-Bildner</u>	<u>Aux 1</u>	<u>Aux 2</u>	<u>Sonstige</u>		
Bydgeman et al., 1981 (11)	69	11	56	2		97,1%
Araya et al., 1982 (2)	34	7	19	8		76,5%
Arini et al., 1983 (3)	12	4	5	3		75,0%
Danielsson et al., 1983 (23)	10	2	7	1		90,0%
Odugbemi et al., 1983 (70)	39	21	10	8		79,5%

Dilon and Pauze (26) konnten darüberhinaus einen Zusammenhang zwischen den penicillinasebildenden Plasmiden und dem entsprechenden Auxotyp aufzeigen: 90% der Isolate, die das 2,6- und 3,2-Megadalton-Plasmid beherbergten, gehörten dem Auxotyp 1 an, was auch Perine und Mitarbeiter (72) bestätigen konnten. Im Gegensatz hierzu waren die 2,6- und 4,5-Megadalton-Plasmide tragenden Stämme vorzugsweise dem Auxotyp 2 zuzuordnen.

Eine mögliche Erklärung für die Bevorzugung prototropher bzw. Prolin benötigender Stämme als Plasmidträger ergäbe sich aus der Annahme, daß mit zunehmender Zahl von Defekten die Überlebensfähigkeit abnimmt, wofür die signifikant niedrigere MHK der übrigen Stämme gegenüber diesen beiden Stammgruppen spricht. In Assoziation mit der womöglich ebenfalls die Lebensfähigkeit einschränkenden Aufnahme eines Plasmids wären somit gerade die am wenigsten belasteten Stämme, d. h. die prototrophen bzw. Ein-Defekt-Stämme, zur Plasmidaufnahme prädestiniert, eine Hypothese, die auch Dickgießers Vermutung impliziert, daß die Auxotypen, bei denen vorwiegend Plasmide gefunden werden, "... gegenüber den Einflüssen der Umwelt oder der Plasmide widerstandsfähiger sind als *N. gonorrhoeae* anderer Auxotypen und sich dadurch behaupten können." (24).

Der 5,1% betragende Anteil an Arginin-Hypoxanthin-Uracil-benötigenden Stämmen (siehe Abb. 9) entsprach in etwa der Vorkommenshäufigkeit dieses Typs in der Schweiz (6,0% (3)). In Großbritannien und in Schweden war dieser Auxotyp mit 27,5% (21) bzw. 40% (62) deutlich stärker vertreten. In den USA zeigten die AHU-Stämme ebenfalls einen sehr unterschiedlichen Anteil an der Gesamtpopulation verschiedener Untersuchungsgruppen. Sie erreichten bei Noble und Parekh 1983 (66) einen Anteil von 6,6%, bei Handsfield und Mitarbeitern (38) 42,4% und bei Mirret und Mitarbeitern (61) 1981 sogar 59,7%.

Daß 10 der 117 untersuchten Bakterienstämme (8,5%) (siehe Abb. 9) keinem der von Catlin (15) aufgeführten Auxotypen zuzuordnen waren, stellt zwar gegenüber den drei (1,8%) ebenfalls bei Münchner Gonokokken-Isolaten neu entdeckten Auxotypen (77) eine deutliche Zunahme dar, ist jedoch ein bereits in anderen Untersuchungspopulationen wiederholt beobachtetes Phänomen. Beispielsweise fanden Danielsson und Mitarbeiter (23) nicht weniger als 23,6% schwedischer *Neisseria gonorrhoeae*-Stämme, die in ihrem Ernährungsprofil nicht den Auxotypen von Catlin (15) zuzuordnen waren.

4.1.3 Serumresistenz

92 der 116 untersuchten Gonokokken-Isolate (79,3%) waren serumresistent und wiesen damit eine Eigenschaft auf, die, wie Schoolnik und Mitarbeiter (80) 1976 erstmals

zeigen konnten, in besonderem Maße zur Ausbildung einer disseminierten Gonokokkeninfektion prädestinieren. Eine Abhängigkeit vom Geschlecht der betroffenen Personen konnte nicht festgestellt werden, was mit den Ergebnissen von Lavitola und Mitarbeitern (57) übereinstimmt.

4.2 Korrelation von Antibiotikaempfindlichkeit, Auxotyp und Serumresistenz im Münchner und auswärtigen Untersuchungsmaterial

4.2.1 Antibiotikaempfindlichkeit und Auxotyp

Die für Penicillin geltende Feststellung, daß Repräsentanten der Auxotypen 1 und 2 gegenüber den übrigen Auxotypen resistenter sind (69), konnte auch im Rahmen dieser Arbeit statistisch abgesichert ($p \leq 0,01$) (siehe Tabelle 6) und ihre Gültigkeit auch für die Cephalosporine gezeigt werden ($p \leq 0,01$).

Das hinlänglich bekannte und von anderen Autoren wiederholt beschriebene bimodale Verteilungsmuster der Penicillin-MHK-Werte (9; 77) konnte durch Zuordnung von Stämmen bestimmter Auxotypen zu den Maxima erklärt werden, wobei das Maximum im Bereich höherer Antibiotikakonzentrationen vornehmlich von prototrophen Stämmen, das Maximum im Bereich niedriger Antibiotikaempfindlichkeit überwiegend von auxotrophen Stämmen geformt wurde (siehe Abb. 10). Gleichzeitig korrelierte die von Cepha-

losporin- zu Cephalosporingeneration immer deutlicher werdende Tendenz, nur eine einzige Spitze bei den aufgetragenen MHK-Werten auszubilden (siehe Abb. 2 bis 6) mit einer Abnahme von relativ resistenten Untergruppen von Auxotyp-1-Stämmen (siehe Abb. 11 bis 15). Anders ausgedrückt ist die Wirkungssteigerung der neuen Cephalosporine (Cefotiam, besonders jedoch Cefmenoxim und Ceftizoxim) gegenüber Gonokokken bei gegenüber früheren β -Laktam-Antibiotika relativ resistenten Gonokokkenstämmen sogar noch höher als beim Gesamt aller Gonokokkenstämme.

Neben den fünf β -Laktamase-produzierenden Stämmen (MHK $\geq 64 \mu\text{g/ml}$) benötigten sieben weitere Stämme (6%) mindestens eine Konzentration von $1 \mu\text{g/ml}$ Penicillin (bis zu $4 \mu\text{g/ml}$ (siehe Abb. 1)) zur vollständigen Hemmung. Von diesen Stämmen, die von verschiedenen Autoren ebenfalls als resistent betrachtet werden (6; 35), gehörten drei dem Auxotyp 1 und zwei dem Auxotyp 2 an. Dieser Nachteil des Penicillins, v. a. die sehr widerstandsfähigen Repräsentanten der prototrophen und Prolin-benötigenden Stämme - auch in Abwesenheit von β -Laktamase - nur in hohen Konzentrationen ausreichend hemmen zu können, ist zwar bei den alten Cephalosporinen wie Cephalothin und Cefazolin, aber nicht mehr bei Cefotiam und erst recht nicht mehr bei Cefmenoxim und Ceftizoxim gegeben.

Die sechs Vertreter der Arginin-Hypoxanthin-Uracil-benötigenden Stämme fielen in dieser Untersuchung sowohl bei Penicillin als auch den übrigen Cephalosporinen durch ihre sehr niedrigen MHK-Werte auf, die z. B. bei Penicillin 0,031 µg/ml, bei Cefmenoxim 0,002 µg/ml und bei Ceftizoxim sogar 0,001 µg/ml nicht überschritten (siehe Abb. 10, 14, 15). Diese hohe Empfindlichkeit von Stämmen dieses Auxotyps gegenüber Penicillin wurde bereits wiederholt beschrieben (17; 31; 51; 63). Noble und Parekh zeigten diese hohe Empfindlichkeit der dem Auxotyp 14 angehörenden Stämme noch zusätzlich für Tetrazyklin, Cefacolor, Cefoxitin und Moxalactam (67).

4.2.2 Antibiotikaempfindlichkeit und Serumresistenz

Wie auch andere Untersucher (57) zeigten, fand sich bei serumresistenten bzw. serumempfindlichen Stämmen in bezug auf ihre Auxotypenzugehörigkeit keine Häufung bestimmter Auxotypen. Im Hinblick auf ihre Empfindlichkeit gegenüber den verschiedenen β -Laktam-Antibiotika zeigten diese beiden Gruppen von Stämmen jedoch bemerkenswerte Unterschiede (siehe Tabelle 8), das geometrische Mittel der MHK-Werte lag bei allen Antibiotika, im Falle des Penicillins und Cefotiams sogar signifikant ($p \leq 0,05$), bei den serumresistenten Stämmen höher als bei den serumempfindlichen Stämmen. Jedoch nahm die Differenz der geometrischen Mittel der MHK-Werte dieser beiden Gonokokkengruppen von Cephalosporin-

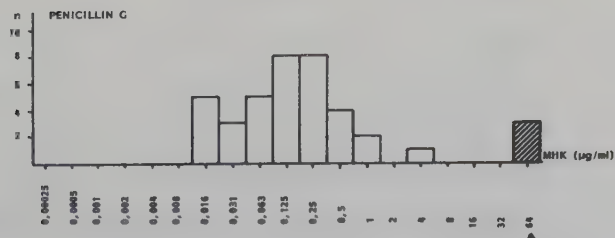
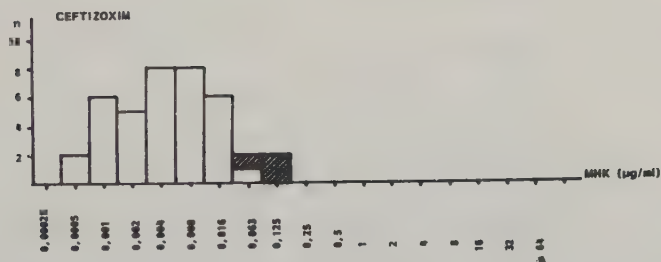
zu Cephalosporingeneration immer mehr ab, wobei Penicillin aufgrund der ermittelten MHK-Werte Cefotiam am ähnlichsten ist.

4.2.3 Antibiotikaempfindlichkeit, Auxotyp und Serumresistenz

Besonders auffällig läßt sich der Unterschied in der Wirkungsstärke zwischen Penicillin G und den Drittgenerationscephalosporinen Cefmenoxim und Ceftizoxim beim Vergleich der MHK-Werte gegenüber einer besonders resistenten Gonokokkensubpopulation aufzeigen, nämlich den serumresistenten Vertretern des Auxotyps 1, deren MHK-Verteilung für Penicillin, Cefmenoxim und Ceftizoxim Abbildung 17 zeigt.

In der Antibiotikaempfindlichkeit ergab sich beim Vergleich der geometrischen Mittel der MHK-Werte gegenüber Penicillin für Cefmenoxim und Ceftizoxim ein jeweils signifikanter Unterschied ($p \leq 0,01$).

Abbildung 17: Verteilung der MHK-Werte serumresistenter *Neisseria gonorrhoeae*-Stämme des Auxotyps 1 bei Penicillin G, Cefmenoxim und Ceftizoxim



4.3 Konsequenzen der vorliegenden Untersuchungsergebnisse für die Therapie der Gonorrhoe

Zusammenfassend ergibt sich, daß auch die vorliegenden MHK-Bestimmungen wiederum die von Generation (Cefotiam) zu Generation (Cefmenoxim, Ceftizoxim) stark ansteigende In-Vitro-Aktivität der neuen Cephalosporine gegen Gonokokken belegen und zwar unabhängig von der Bildung von β -Laktamase, welche bei Penicillinen entscheidende Bedeutung besitzt. Auch ist bei den Cephalosporinen kein so starker Unterschied in der Antibiotikaempfindlichkeit gegenüber serumresistenten und serumempfindlichen Stämmen zu erkennen, wie es bei Penicillin der Fall ist. Darüber hinaus zeigen die neuen Cephalosporine neben der generellen Wirkungssteigerung gegenüber Gonokokkenstämmen auch eine relativ noch stärkere Wirkung gegenüber jenen Gonokokkenstämmen einer Population, die auf chromosomaler Basis gegenüber Penicillin G besonders unempfindlich sind, nämlich serumresistenten Auxotyp 1 bzw. 2 angehörenden Stämmen. Eine Ausbreitung gerader dieser Stämme wäre bei einer weiteren Behandlung der Gonorrhoe mit Penicillin - soweit sie überhaupt durchführbar ist - nicht auszuschließen, wenn nicht gar zu erwarten, was im übrigen angesichts der Assoziation von Auxotyp und Plasmid auch unter dem Aspekt der β -Laktamasebildner zu sehen ist. Nachdem nun aufgrund der hier vorgelegten Untersuchung gerade diese Stämme kaum mehr (Zweitgenerationscephalospori-

ne wie Cefotiam) bzw. fast gar nicht mehr (Drittgenerationscephalosporine wie Cefmenoxim und Ceftizoxim) ein spezielles therapeutisches Problem bieten, ist unter allgemeinen epidemiologischen Gesichtspunkten ein breiter Einsatz der neuen Cephalosporine zu befürworten. Unter individualtherapeutischen Gesichtspunkten erscheinen sie ja aufgrund der generell niedrigeren minimalen Hemmkonzentration und der praktisch fehlenden β -Laktamaseabhängigkeit ohnehin überlegen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

117 Gonokokken-Stämme (darunter fünf β -Laktamasebildner), die im Rahmen einer klinischen Studie über die Wirksamkeit von Cefotiam aus der Genitalregion (Urethra, Cervix) von an unkomplizierter Gonorrhoe erkrankten Patienten isoliert worden waren, wurden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Penicillin G und fünf Cephalosporinen, die alle drei Generationen dieser Antibiotikaklasse repräsentieren (Cephalothin, Cefazolin; Cefotiam; Cefmenoxim, Ceftizoxim) untersucht. Gleichzeitig wurde von jedem Stamm der Auxotyp nach der Methode von Catlin sowie seine Empfindlichkeit gegenüber normalem humanen Serum bestimmt. Die antibakterielle Aktivität, ausgedrückt durch die $MHK_{90\%}$, reichte von 4 $\mu\text{g/ml}$ für Cephalothin, 2 $\mu\text{g/ml}$ für Cefazolin und 0,5 $\mu\text{g/ml}$ für Penicillin G bis zu 0,25 $\mu\text{g/ml}$ für Cefotiam und 0,016 $\mu\text{g/ml}$ sowohl für Cefmenoxim als auch für Ceftizoxim. Die Auxotypenbestimmung ergab zwar eine Dominanz der Auxotypen 1 (40,2%) und 2 (18,8%), wies jedoch noch 14 weitere von Catlin bestimmte Auxotypen, z. T. mehrmals, nach; zusätzlich fanden sich zehn weitere Stämme, die keinem von Catlin beschriebenen Auxotyp zuzuordnen waren. 79% der untersuchten Stämme waren serumresistent, eine Korrelation zwischen Serumresistenz und Patientengeschlecht bestand nicht.

Das bimodale MHK-Verteilungsmuster bei Penicillin G und den älteren Cephalosporinen Cephalothin und Cefazolin resultierte aus einer zahlenmäßig starken Untergruppe relativ resistenter prototropher Stämme. Aufgrund der von Generation zu Generation abnehmenden Probleme der neuen Cephalosporine mit diesen relativ unempfindlichen Stämmen ergab sich ein Wechsel in Richtung einer monomodalen Verteilung der MHK-Werte, wobei beim Zweitgenerationscephalosporin Cefotiam der Gipfel im Bereich mittlerer Antibiotikaempfindlichkeit lag, bei den Drittgenerationscephalosporinen Cefmenoxim und Ceftizoxim im Bereich sehr niedriger Antibiotikakonzentrationen.

Dem Auxotyp 1 bzw. 2 angehörende Stämme waren gegenüber allen getesteten Antibiotika signifikant ($p \leq 0,01$) resistenter als die übrigen (Defekt-)Stämme, wohingegen dem Auxotyp 14 angehörende Stämme durch eine besonders hohe Empfindlichkeit auffielen.

Serumresistente Stämme lagen in ihrer Antibiotikaempfindlichkeit durchwegs niedriger als serumempfindliche Stämme (signifikant bei Cefotiam und Penicillin G ($p \leq 0,05$)), eine Abhängigkeit dieser Eigenschaften vom Auxotyp konnte nicht festgestellt werden. Neben der generellen Wirkungssteigerung der Cephalosporine der zweiten und dritten Generation zeigten sie darüber hinaus gegenüber der sehr unempfindlichen Subpopulation serumresistenter Auxotyp-1-Stämme eine besonders deutliche Wirkungssteigerung ($p \leq 0,01$ für Cefmenoxim und Ceftizoxim).

Somit sollten Cefotiam, Cefmenoxim und Ceftizoxim sowohl aufgrund individualtherapeutischer (generell niedrigere MHK und fehlende β -Laktamaseabhängigkeit) als auch epidemiologischer (Verhinderung der Ausbreitung resistenter Gonokokkensubpopulationen) Gesichtspunkte bei der Behandlung der Gonorrhoe dem Penicillin G vorgezogen werden.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Ansink-Schipper, M. C.; Huikeshoven, M. H.; Woudstra, R. K.; van Klingeren, B.; De Korning, G. A. J.; Tio, D.; Schoonhoeven, J.F.; Coutinho, R.A.: Epidemiology of PPNG infections in Amsterdam: Analysis by auxanographic typing and plasmid characterisation.
Br J Vener Dis 60: 23-28 (1984)
- 2 Araya, O. P.; Rees, E.; Percival, A.; Alergant, C. D.; Annels, E. H.; Turner, G. C.: Epidemiology and treatment of gonorrhoea caused by penicillinase-producing strains in Liverpool.
Br J Vener Dis 54: 28-35 (1978)
- 3 Arini, A.; Peduzzi, R.; Piffaretti, J.C.: Epidémiologie de Neisseria gonorrhoeae isolées en Suisse: sensibilité aux antibiotiques et auxotypie.
Schweiz med Wschr 113: 462-470 (1983)
- 4 Ashford, W.A.; Galash, R.G.; Hemming, U.G.: Penicillin-producing Neisseria gonorrhoeae.
Lancet II: 657-658 (1976)
- 5 Biswas, G.; Corner, S.; Sparling, P.F.: Chromosomal location of antibiotic resistance genes in N. gonorrhoeae.
J Bacteriol 122: 1293 (1976)

- 6 Brown, S.; Biddle, J.; Warnisson, T.; Panikabutra, K.; Traisupa, A.: Antimicrobial resistance of Neisseria gonorrhoeae in Bangkok: is single drug treatment passe? Lancet ii: 1366-1368 (1982)
- 7 Buchanan, T. M.; Swanson, J.; Gotschlich, E. C.: Antibody response to gonococcal pili in patients with gonorrhoea.
J Clin Invest 51: 17a (1972)
- 8 Buchanan, T. M.; Swanson, J.; Holmes, K. K.; Kraus, S. J.; Gotschlich, E. C.: Quantitative determination of antibody pili. Changes in antibody levels with gonococcal infection.
J Clin Invest 52: 2896-2909 (1973)
- 9 Bydgeman, S.: Antibiotic Susceptibility of Neisseria gonorrhoeae in Relation to Serogroups.
Acta path microb scand Sect B 89: 227-237 (1981)
- 10 Bydgeman, S.: Gonorrhoea in man with homosexual contacts. Serogroups of isolated gonococcal strains related to antibiotic susceptibility, site of infection, and symptoms.
Br J Vener Dis 57: 320-324 (1981)
- 11 Bydgeman, S.; Kallings, J.; Danielsson, D.: Serogrouping And Auxotyping For Epidemiological Study of

β -Lactamase-Producing *Neisseria gonorrhoeae* Strains
Isolated in Sweden.

Acta Dermatovener (Stockholm) 61: 329-334 (1981)

- 12 Cannon, J. G.; Lee, T. J.; Guymon, L. F.; Sparling,
P. F.: Genetics of serum resistance of *Neisseria*
gonorrhoeae: the *sac-1* genetic locus.
Infect Immun 32: 547-552 (1981)
- 13 Carifo, K.; Catlin, B. W.: *Neisseria gonorrhoea*
auxotyping: differentiation of clinical isolates
based on growth responses on chemically defined media.
Appl Microbiol 26: 223-230 (1973)
- 14 Catlin, B. W.: Nutritional Profiles of *Neisseria go-*
norrhoeae, *Neisseria meningitidis*, and *Neisseria*
lactamica in Chemically Defined Media and the Use of
Growth Requirements for Gonococcal Typing.
J Infect Dis 128: 178-194 (1973)
- 15 Catlin, B. W.: Characteristics and auxotyping of
Neisseria gonorrhoeae. In: Bergan, Norris: Methods
in Microbiology, vol. 10, pp 345-380 (Academic Press,
London, New York, San Francisco, 1978)
- 16 Catlin, B. W.; Pace, P. J.: Auxotypes and Penicillin
Susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* Isolated from

Patients with Gonorrhoea Involving Two or More Sites.
Antimicrob Agents Chemoth 12: 147-156 (1977)

- 17 Catlin, B. W.; Pace, P. J.: Nutritional requirements and penicillin susceptibilities of gonococcal from pharyngeal and anogenital sites.
Br J Vener Dis 53: 299-303 (1977)
- 18 Catlin, B. W.; Reyn, A.: Neisseria gonorrhoeae isolated from disseminated and localised infections in pre-penicillin era.
Br J Vener Dis 58: 158-162 (1982)
- 19 Cavalli-Sforza: Biometrie
Stuttgart (3. Aufl.) 1972
- 20 Copley, C.G.; Chiswell, C.P.; Egglestone, S.I.:
Neisseria gonorrhoeae: stability of typing markers after natural transmission.
Br J Vener Dis 59: 237-241 (1983)
- 21 Copley, C. G.; Egglestone, S. I.: Auxotyping of
Neisseria gonorrhoeae Isolated In The United Kingdom.
Med Microbiol 16: 295-302 (1983)
- 22 Corbeil, L. B.; Wunderlich, A. C.; Ito, J. I.; Allen, J.:
Plaque Assay for Measuring Serum Bactericidal

Activity Against Gonococci.

J Clin Microb 8: 618-620 (1978)

- 23 Danielsson, D.; Bydgeman, S.; Kallings, I.: Epidemiology of gonorrhoea: serogroup, antibiotic susceptibility, and auxotype patterns of consecutive gonococcal isolates from different areas of Sweden. Scand J Infect Dis 15: 33-42 (1983)
- 24 Dickgiesser, N.: Beta-Laktamase-positive Neisseria gonorrhoeae: Isoelektrofocussierung der Beta-Laktamasen und Plasmidnachweis im Agarosegel. Akt Dermatol 9: 179-183 (1983)
- 25 Dillon, J. A.; Pauze, M.: Relationship Between Plasmid Content and Auxotype in Neisseria gonorrhoeae Isolates. Infect Immun 33: 625-628 (1981)
- 26 Dillon, J. A.; Pauze, M.: Introductory Address: Resistance to Antimicrobial Agents. What next for Neisseria gonorrhoeae? Sex Transm Dis 11 (Suppl.): 353-359 (1984)
- 27 Draper, D.; James, J. F.; Hadley, W. K.; Sweet, R. L.: Auxotypes and Antibiotic Susceptibilities of Neisseria gonorrhoeae from Women with Acute Salpingitis: Comparison with Gonococci Causing Uncomplicated Genital

Tract Infections in Women.

Sex Transm Dis 8: 43-50 (1981)

- 28 Duncan, W. C.; Treatment of Gonorrhoea with Cefazolin plus Probenecid.
J Infect Dis 130: 398-401 (1974)
- 29 Eichmann, A.: Penizillinresistenz der Gonorrhoe in Europa.
Hautarzt 34: 537-538 (1983)
- 30 Eichmann, A.; Piffaretti, J.-C.: Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* in Zurich, Switzerland.
Br J Vener Dis 60: 147-150 (1984)
- 31 Eisenstein, B. J.; Lee, T. J.; Sparling, P. F.: Penicillin sensitivity and serum resistance are independent attributes of strains of *Neisseria gonorrhoeae* causing disseminated gonococcal infections.
Infect Immun 15: 834-841 (1977)
- 32 Exner, A. C.; Shinnars, E. N.; Pace, P. J.; Catlin, B. W.: Auxotypes and antibacterial resistance of gonococci with differing susceptibilities to vancomycin.
Br J Vener Dis 58: 166-175 (1982)

- 33 Felman, Y. M.; Nikitas, J. A.: 1981 schedules for the treatment of sexually transmitted diseases as recommended by the New York City Health Department Bureau of Venereal Disease Control.
Part I. Cutis 28: 124-139 (1981)
- 34 Fierer, J.; Finley, F.; Braude, A. J.: A plaque assay on agar for detection of gram-negative bacilli sensitive to complement.
J Immunol 109: 1156-1158 (1972)
- 35 Guinan, M. E.; Buddle, J.; Thornsberry, C.; Reynolds, G.; Zaidi, A.; Wiesner, P., and Cooperative Study Group: The national gonorrhoea therapy monitoring study. 1. Review of treatment results and in vitro antibiotic susceptibility, 1972-1978.
Sex Transm Dis 6: 93-102 (1979)
- 36 Guymon, L. F.; Esser, W.; Shafer, W. M.: Pyocin-resistant lipopolysaccharide mutants of Neisseria gonorrhoeae: alterations in sensitivity to normal human serum and polymyxin B.
Infect Immun 36: 541-547 (1982)
- 37 Hall, W. H.; Schierl, E. A.; Maccani, J. E.: Comparative Susceptibility of Penicillinase-Positive and -Negative Neisseria gonorrhoeae to 30 Antibiotics.
Antimicrob Agents Chemoth 15: 562-567 (1979)

- 38 Handsfield, H. H.; Knapp, J. S.; Diehr, P. K.;
Holmes, K. K.: Correlation of Auxotype and Peni-
cillin Susceptibility of Neisseria gonorrhoeae
with Sexual Preference and Clinical Manifestations
of Gonorrhoea.
Sex Transm Dis 7: 1-5 (1980)
- 39 Handsfield, H. H.; Holmes, K. K.: Treatment of
Uncomplicated Gonorrhoea with Cefotaxime.
Sex Transm Dis 8: 187-191 (1981)
- 40 Handsfield, H. H.; Sandström, E. G.; Knapp, J. S.;
Perine, P. L.; Whittington, W. L.; Sayers, D. E.;
Holmes, K. K.: Epidemiology of Penicillinase-Pro-
ducing Neisseria gonorrhoeae Infections. Analysis
by Auxotyping and Serogrouping.
N Engl J Med 306: 950-954 (1982)
- 41 Harriman, G. R.; Podack, E. R.; Braude, A. J.; Cor-
beil, L. C.; Esser, A. F.; Curd, J. G.: Activation
of complement by serum-resistant Neisseria gonorr-
hoeae: assembly of the membrane attack complex with-
out subsequent cell death.
J Exp Med 156: 1235-1249 (1982)
- 42 Harrison, W. O; Sanchez, P. L.; Lancaster, D. J.;
Kerbs, S. B.; Berg, S. W.: Ceftizoxime (FK-749)
Is Effective Therapy for Urethritis Caused by Peni-

cillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*.

Sex Transm Dis 11: 30-31 (1983)

- 43 Hendry, A. T.; Stewart, I. O.: Auxanographic grouping and typing of *Neisseria gonorrhoeae*.
Can J Microbiol 25: 512 - 521 (1979)
- 44 Herzog, C.; Ison, C. A.; Easmon, C. S. F.: Antimicrobial sensitivity of *Neisseria gonorrhoeae*. Comparison of penicillinase and non-penicillinase producing strains.
Br J Vener Dis 59: 289-292 (1983)
- 45 Hildebrandt, J. D.; Mayer, L. W.; Wong, S. P.; Buchanan, T. M.: *Neisseria gonorrhoeae* acquire a new principal outer membrane protein when transformed to resistance to serum bactericidal activity.
Infect Immun 20: 267-273 (1978)
- 46 Hipp, S. S.; Lawton, W. D.; Chen, N. C.; Gaafar, H. A.: Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by a Factor Produced by *Candida albicans*.
Applied Microbiol 27: 192-196 (1974)
- 47 Hipp, S. S.; Lawton, W. D.; Savage, M.; Gaafar, H. A.: Selective Interaction of *Neisseria gonorrhoeae* and *Candida albicans* and Its Possible Role in Clinical Specimens.
J Clin Microbiol 1: 476-477 (1975)

- 48 Hofmann, H.: Neuzeitliche Behandlung der Gonorrhoe.
Klinikerzt 9: 206-209 (1980)
- 49 Jephcott, A. E.; Reyn, A.; Birch-Andersen, A.: Brief
report: Neisseria gonorrhoeae: III. Demonstration
of presumed appendages to cells from different colony
types.
Acta Pathol Microbiol Scand (B) 79: 437-439 (1971)
- 50 Johnston, K.; Holmes, K. K.; Gotschlich, E. C.: The
serological classification of Neisseria gonorrhoeae.
I. Isolation of the outer membrane complex respon-
sible for serotypic specificity.
J Exp Med 143: 741-758 (1976)
- 51 Knapp, J. S.; Holmes, K. K.: Disseminated gonococcal
infections caused by Neisseria gonorrhoeae with unique
nutritional requirements.
J Infect Dis 132: 204-208 (1975)
- 52 Knapp, J. S.; Thornsberry, C.; Schoolnik, G. A.;
Wiesner, P. J.; Holmes, K. K., and the Cooperative
Study Group: Phenotypic and epidemiologic correlates
of auxotype in Neisseria gonorrhoeae.
J Infect Dis 138: 160-165 (1978)
- 52a Korting, H. C.; Neubert, U.: Treatment of Gonorr-
hoea with Cefotiam: Activity in vitro and Clinical

Results of a 1-Gram Single-Dose Regimen.

Dermatol 171: 264-268 (1985)

- 53 Korting, H. C.: In Vitro Susceptibility of Recent Isolates of *Neisseria gonorrhoeae* to Cephalosporins of Different Generations and Penicillin G: A Comparative Evaluation.
Dermatol 168: 67-72 (1984)
- 54 Lambden, P. R.; Heckels, J. E; Jones, L. T.; Watt, P. J.: Variations in surface protein composition associated with virulence properties in opacity types of *Neisseria gonorrhoeae*.
J Gen Microbiol 114: 305-312 (1979)
- 55 Lankford, C. E.; Skaggs, P. K.: Cocarboxylase as a Growth Factor for Certain Strains of *Neisseria gonorrhoeae*.
Archs Biochem 9: 265-283 (1946)
- 56 La Scolea, L. J.; Young, F. E.: Development of defined minimal medium for the Growth of *Neisseria gonorrhoeae*.
Appl Microbiol 28: 70-76 (1974)
- 57 Lavitola, A.; Martin, P. M. V.; Pean, J.; Guibourdenche, M.; Riou, J.-Y.: Stable serum resistance of *Neisseria gonorrhoeae* as an epidemiological marker.
Br J Vener Dis 60: 298-301 (1984)

- 58 Le Faou, A.; Guy, I.; Riou, J.-Y.: Auxotypes et sensibilité A6 Antibiotiques Des Souches De *Neisseria Gonorrhoeae* Isolées A Strassbourg En 1977-1978.
Ann Dermatol Venerol (Paris) 106: 267-272 (1979)
- 59 Martin, P. M. V.; Guibourdenche, M.; Riou, J.-Y.: Resistance to Killing By Serum, Auxotypes, and Disseminated Gonococcal Infections.
N Engl J Med 4: 1214 (1982)
- 60 McCutchan, J. A.; Adler, M. W.; Benie, J. R.: Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* in Great Britain, 1977-1981: alarming increase in incidence and recent development of endemic transmission.
Br Med J 285: 337-340 (1982)
- 61 Mirret, S.; Reller, L. B.; Knapp, J. S.: *Neisseria gonorrhoeae* strains inhibited by vancomycin in selective media and correlation with auxotype.
J Clin Microbiol 14: 94-99 (1981)
- 62 Moberg, I.: Auxotyping of gonococcal isolates. In: Danielsson, D.; Julin, L.; Mardh, P. A., eds. Genital Infections and their Complications.
Stockholm: Almquist & Wiksell, 271-273 (1975)

- 63 Morello, J. A.; Lerner, S. A.; Bonhoff, M.: Characteristics of atypical *Neisseria gonorrhoeae* from disseminated and localized infections.
Inf Immun 13: 1510-1516 (1976)
- 64 Morse, S. A.; Apicella, M. A.: Isolation of lipopolysaccharide mutant of *Neisseria gonorrhoeae* and biological differences.
J. Infect Dis 145: 206-216 (1982)
- 65 Ng, W. S.; Anton, P.; Arnold, K.: *Neisseria gonorrhoeae* Strains Isolated in Hong Kong: In Vitro Susceptibility to 13 Antibiotics.
Antimicrob Agents Chemother 19: 12-17 (1981)
- 66 Noble, R. C.; Parekh, M. C.: Changes in the Prevalence of Auxotypes of *Neisseria gonorrhoeae* among Black and White Patients Attending a Clinic for Sexually Transmitted Diseases.
Sex Transm Dis 10: 14-17 (1983)
- 67 Noble, R. C.; Parekh, M. C.: Association of Auxotypes of *Neisseria gonorrhoeae* and Susceptibility to Penicillin G, Spectinomycin, Tetracycline, Cefaclor, Cefoxitin, and Moxalactam.
Sex Transm Dis 10: 18-23 (1983)
- 68 Noble, R. C.; Parekh, M. C.: Susceptibility of Diffe-

rent Auxotypes of *Neisseria gonorrhoeae* to Norfloxacin, Cefotaxime, Cefuroxime, and Erythromycin.

Sex Transm Dis 11: 152 - 155 (1984)

- 69 Noble, R. C.; Miller, B. R.: Auxotypes and antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* in black and white patients.
Br J Vener Dis 56: 26-30 (1980)
- 70 Odugbemi, T. O.; Brown, S. T.; Biddle, G.; Johnson, S.; Perkins, G.; De Witt, W.; Albritton, W. L.: Plasmid profile, serogrouping, and auxotyping of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Africa.
Br J Vener Dis 59: 41-43 (1983)
- 71 Osaha, A. O.: Sexually transmitted diseases in tropical Africa: a review of the present situation.
Br J Vener Dis 57: 89-94 (1981)
- 72 Perine, P. L.; Morton, R. S.; Piot, P.; Siegel, M. S.; Antal, G. M.: Epidemiology and treatment of penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*.
Sex Transm Dis 6 (Suppl.) 152-158 (1979)
- 73 Philipps, I.: β -Lactamase producing, penicillin-resistant gonococcus.
Lancet II: 656-657 (1976)

- 74 Prere, M. F.; Lefevre, J. C.; Lareng, M. B.: Sensibilite aux antibiotiques des souches de *Neisseria gonorrhoeae* isolees dans la region toulousaine - Etude de l'activite in vitro de quatre nouvelles cephalosporins.
Med Malad Infect 11: 249-254 (1981)
- 75 Prere, M. F.; Lefevre, J. C.; Lareng, M. B.: Study of in vitro Activity of New Cephalosporins on Strains of *Neisseria gonorrhoeae* of the Toulouse Region.
Chemoth 27 (Suppl. 1) 15-18 (1981)
- 76 Rodriguez, J.; Fuxench-Chiesa, Z.; Ramirez-Ronda, C. H.; Kouri, Y.; Cuevas, R.; Nevrez, M.; Perez, M.: In Vitro Susceptibility of 50 Non- β -Lactamase-Producing *Neisseria gonorrhoeae* Strains to 12 Antimicrobial Agents.
Antimicrob Agents Chemoth 23: 242-244 (1983)
- 77 Ruckdeschel, G.; Neubert, U.; Korting, H. C.: Distribution of auxotypes and correlation of antibiotic susceptibilities of 169 recent clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Munich.
Arch Dermatol Res 275: 388-392 (1983)
- 78 Sandström, E.; Danielsson, D.: Serology of *Neisseria gonorrhoeae*. Classification By Co-Agglutination.
Acta path microbiol scand Sect B 88: 27-38 (1980)

- 79 Schneider, H.; Griffis, J. M.; Williams, G. D.;
Pier, G. B.: Immunological basis of serum resistance
in *Neisseria gonorrhoeae*.
J Gen Microbiol 128: 13-22 (1982)
- 80 Schoolnik, G. K.; Buchanan, T. M.; Holmes, K. K.:
Gonococci causing disseminated gonococcal infection
are resistant to the bactericidal action of normal
human sera.
J Clin Invest 58: 1163-1173 (1976)
- 81 Schoolnik, G. K.; Ochs, H. D.; Buchanan, T. M.:
Immunglobulin class responsible for gonococcal bac-
tericidal activity in normal human sera.
J Immunol 122: 1771-1779 (1979)
- 82 Sng, E. H.; Rajan, V. S.; Pang, R.; Yeo, V. L.:
Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to cefo-
taxime and ceftizoxime.
Br J Vener Dis 57: 162-164 (1981)
- 83 Spencer, R.C.; Smith, T.; Talbot, M. D.: Cefti-
zoxime in the treatment of uncomplicated gonorr-
hoeae.
Br J Vener Dis 60: 90-91 (1984)
- 84 Spink, W. W.; Keefer, M. E.: Studies of gono-
coccal infection. II. The bacteriolytic power of

the whole defibrinated blood of patients with gonococcal arthritis.

J Clin Invest 16: 177-183 (1937)

- 85 Spratt, S. K.; Jones, F.; Shockley, T. E.; Jackson, J. H.: Cotransformation of a serum resistant phenotype with genes for arginine biosynthesis. Infect Immun 29: 287-289 (1980)
- 86 Stewart, I.O.; Hendry, A. T.: Association between the Auxogroup of Neisseria gonorrhoeae and the Minimal Inhibitory Concentration of Penicillin. Sex Transm Dis 6: 247-252 (1979)
- 87 Swanson, J.; Krause, S. J.; Gotschlich, E. C.: Studies on gonococcus infection. I. Pili and zones of adhesion: their relationship to gonococcal growth patterns. J Exp Med 137: 196-200 (1971)
- 88 Thabaut, A.; Durosier, J. L.; Saliou, P.: Comparative in vitro Activity of 8 Cephalosporins on 109 Strains of Neisseria gonorrhoeae and 60 Strains of Neisseria meningitidis. Chemoth 27 (Suppl. 1) 19-24 (1981)
- 89 Thin, R. N.; Balow, D.; Eykyn, S.; Philipps, I.: Imported penicillinase producing Neisseria gonorr-

hoeae becomes endemic in London.

Br J Vener Dis 59: 364-368 (1983)

- 90 Thompson, S. E.; Reynolds, G.; Short, H. B.; Thornsberry, C.; Biddle, J. W.; Jacobs, N. F.; Rein, M. R.; Zaidi, A. R.; Young, F. E.; Shulman, J. A.: Auxotypes and Antibiotic Susceptibility Patterns of *Neisseria gonorrhoeae* from Disseminated and Local Infections.
Sex Transm Dis 5: 127-131 (1978)
- 91 van Klingeren, B.; van Wijngaarden, J.; Dessens-Kroon, M.; van Embden, J. D. A.: Penicillinase-producing gonococci in the Netherlands in 1981.
J Antimicrob Chemoth 11: 15-20 (1983)
- 92 Virgii, M.; Everson, J.S.: Comparative Virulence of opacity variants of *Neisseria gonorrhoeae* strain P9.
Infect Immun 31: 965-970 (1981)

7. CURRICULUM VITAE

Name: Abeck, Dietrich
Geburtsdatum: 12. August 1959
Geburtsort: Essen
Konfession: römisch-katholisch
Eltern: Dr. Wilhelm Abeck
Barbara Abeck, geb. Wendt

Schulausbildung

1965 - 1969 Besuch der katholischen Volksschule in Opladen

1969 - 1972 Besuch des neusprachlichen Freiherr-vom-Stein-Gymnasiums in Leverkusen

1972 - 1979 Besuch des Gymnasiums Icking wegen Umzugs der Eltern nach Icking

Mai 1979 Abitur

Universität

November 1979 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München

August 1981 Physikum
August 1982 I. Staatsexamen
August 1984 II. Staatsexamen
November 1985 Beendigung des Studiums mit dem 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. O. Braun-Falco danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und für sein gezeigtes Interesse an dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. H.C. Korting für seine beispielhafte Betreuung während der experimentellen Untersuchungen sowie für seine stets hilfreiche und hervorragende Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

Ebenfalls möchte ich mich bei Frau B. Bergen-Rieder und Frä. G. Raith recht herzlich bedanken, die mir während des experimentellen Teils der Arbeit stets mit Rat und Tat zur Seite standen.

